Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

57. BAND, 5. HEFT

MIT 57 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 8. DEZEMBER 1961)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1961

Planta (Berl.)

Preis DM 27.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland*, *L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Die eingereichten Arbeiten sollen 2 Druckbogen (à 16 Druckseiten) in der Regel nicht überschreiten.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301, Fernschreibnummer 01-83319
Heidelberg 1, Postfach 3027, Fernsprecher 27901, Fernschreibnummer 04-61723

57. Band **Inhaltsverzeichnis** 5. Heft

Seite

MÜLLER, F., Über den Abbau von synthetischen Indolverbindungen durch Blumenkohlrosengewebe. Mit 5 Textabbildungen 481

BRAUNER, L., und A. ZIPPERER, Über die Anfangsphasen der geotropischen Krümmungsbewegung von *Avena*-Koleoptilen. Mit 8 Textabbildungen 503

BOCK, G., und W. HAUPT, Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*. III. Die Frage der Lokalisierung des Hellrot-Dunkelrot-Pigmentsystems in der Zelle. Mit 9 Textabbildungen 518

WANNER, H., und R. BACHOFEN, Transport und Verteilung von markierten Assimilaten. I. Mit 3 Textabbildungen 531

LANDGRAF, J. E., Über den Einfluß des Lichtes auf den Proteinstoffwechsel bei Keimlingen von *Sinapis alba* L. Mit 7 Textabbildungen 543

HAHNE, I., Untersuchungen zum Problem der Beteiligung des Wuchsstoffes an der geotropischen Induktion bei Koleoptilen. Mit 15 Textabbildungen 557

KOLLMANN, R., und W. SCHUMACHER, Über die Feinstruktur des Phloems von *Metasequoia glyptostroboides* und seine jahreszeitlichen Veränderungen. I. Mitteilung. Das Ruhephloem. Mit 10 Textabbildungen 583

HÖFNER, W., E. SCHAUMLÖFFEL und L. VÖLKER, Mikronährstoffgehalte von Blüten- und Samenteilen einiger Gramineen 608

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta 57, 481—502 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Justus Liebig-Universität zu Gießen

ÜBER DEN ABBAU VON SYNTHETISCHEN INDOLVERBINDUNGEN DURCH BLUMENKOHLROSENGEWEBE *

Von

FRANZ MÜLLER

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 28. Juli 1961)

Einleitung

Eine Reihe von Veröffentlichungen des letzten Jahrzehnts befaßt sich mit dem enzymatischen Abbau der in Pflanzen vorkommenden Indolverbindungen (Literatur bei LARSEN 1951; GORDON 1954 und 1956; BENTLEY 1958; VAN OVERBEEK 1959). Besondere Beachtung hat bei diesen Untersuchungen der enzymatische Abbau des Tryptophans (Tra)[1] gefunden, das als Ausgangsstoff der pflanzeneigenen Indolderivate gilt. Die enzymatische Bildung der IES aus dem Tra ist vielfach belegt (Literatur bei GORDON und SANCHEZ-NIEVA 1949; LARSEN 1951; GORDON 1954; PILET 1956; DANNENBURG und LIVERMAN 1957; MELCHIOR 1958; AUDUS 1959). Über die Zwischenstufen bis zur IES konnten jedoch bisher keine Aussagen gemacht werden. Nach GORDON (1956) kommen hierfür zwei Möglichkeiten in Betracht, von denen der Weg über die IBTS der wahrscheinlichere ist (vgl. dazu auch DANNENBURG und LIVERMAN 1957). Ein eindeutiger Nachweis der IBTS ist bisher jedoch wegen ihrer geringen Stabilität nicht gelungen (BENTLEY et al. 1956; SHAW et al. 1956; SCHWARZ et al. 1957 und 1958; KAPER et al. 1958). Die IES wird über Zwischenstufen enzymatisch zum IA oxydiert (neuere Arbeiten: FISCHER 1954; RACUSEN 1955; MELCHIOR 1958; STUTZ 1958; FAWCETT, WAIN und WIGHTMAN 1958). Aus dem Aldehyd wird die ICS gebildet (MEYER und POHL 1956; MEYER 1958; MELCHIOR 1958). MELCHIOR (1958) hat als Abbauprodukt des IA und

* Zweiter Teil einer Dissertation der Naturwissenschaftlich-Philosophischen Fakultät der Justus Liebig-Universität, Gießen.

[1] *Abkürzungen der Indolverbindungen.* β-Indolylcarboxylsäure = β-Indolylcarbonsäure: ICS; β-Indolylessigsäure: IES; β-Indolylpropionsäure: IPS; β-Indolylbuttersäure: IBS; β-Indolylbrenztraubensäure: IBTS; β-Indolylglyoxylsäure: IGyS; β-Indolylacetylasparaginsäure: IAAS; β-Indolylacetonitril: IAN; β-Indolylacetamid: IAM; β-Indolylaldehyd = β-Indolylcarboxylaldehyd: IA; β-Indolylacetaldehyd: IAc; Tryptamin: Tri; Tryptophan: Tra.

Über die Herkunft der zu den Versuchen verwendeten Indolverbindungen wurde im Teil I dieser Veröffentlichung berichtet.

wahrscheinlich auch der ICS noch den Stoff „W?" gefunden. Bei Photolyseversuchen konnte ein Abbau der ICS unter Öffnung des Indolringes über die Anthranilsäure festgestellt werden (MEYER und POHL 1956; MELCHIOR 1957; MEYER 1958); ob der enzymatische Abbau den gleichen Weg nimmt, ist bisher nicht geklärt worden.

Der „Hauptabbauweg" des Tra ist zwar durch die oben erwähnten Untersuchungen in großen Zügen weitgehend bekannt, es bleiben jedoch im einzelnen noch viele Fragen über die dabei auftretenden Zwischenprodukte offen. Außerdem sind die Beziehungen weiterer in Pflanzen vorkommender Indolverbindungen zu diesem Abbauweg noch ungeklärt.

Das IAN wird bei einer Reihe von Pflanzen enzymatisch zur IES hydrolysiert (neuere Veröffentlichungen: SEELEY, FAWCETT, WAIN und WIGHTMAN 1956; MICHEL 1957; THIMANN und MAHADEVAN 1958; LIBBERT und BALLIN 1959). Dieses Problem ist vor allem von LIBBERT und BALLIN (1959) an einer ganzen Anzahl von Pflanzenarten untersucht worden. Die enzymatische Natur der Hydrolyse ist durch THIMANN und MAHADEVAN (1958) beleuchtet worden. Unklar ist hingegen noch immer die Stellung des IAM im IAN-Abbau. Von verschiedenen Autoren ist das Amid zunächst als Zwischenprodukt zwischen dem IAN und der IES angesehen worden (BENTLEY und HOUSLEY 1952; JONES, HENBEST, SMITH und BENTLEY 1952; STOWE und THIMANN 1954; THIMANN und MAHADEVAN 1958); da es jedoch nie papierchromatographisch im IAN-Abbau nachgewiesen werden konnte, wird sein tatsächliches Vorkommen als Intermediärprodukt meist in Frage gestellt.

Auch der Abbau der IPS und der IBS und die Beziehung der Abbauwege dieser Indolderivate zum Tra-Abbau sind bisher noch weitgehend ungeklärt. Erste Angaben liegen hierzu von ANDREAE und GOOD (1957), MELCHIOR (1958) und FAWCETT, WAIN und WIGHTMAN (1958) vor.

Für die nachfolgenden Untersuchungen wurde Gewebe von Blumenkohlrosen als Versuchsmaterial gewählt. Dies hat außer dem Fehlen des bei der Extraktion störenden Chlorophylls den Vorteil, daß es eine Anzahl nativer Indolverbindungen enthält (1. Teil dieser Veröffentlichung). Mit diesen nativen Indolverbindungen lassen sich die nach der Inkubation von synthetischen Indolderivaten entstehenden Produkte vergleichen. Auf diese Weise kann festgestellt werden, ob es sich dabei um Stoffe des normalen Abbaus handelt oder um Produkte, deren Entstehung nur auf die besonderen, d. h. *unphysiologischen* Versuchsbedingungen zurückzuführen ist.

Der Zeitfaktor spielt für den Abbau der zugesetzten synthetischen Indolverbindungen eine entscheidende Rolle. Daher wurden Versuche durchgeführt, die einen quantitativen Vergleich der bei verschiedenen Einwirkungszeiten vorliegenden Mengen an Reaktionsprodukten

gestattet. Aus den so erhaltenen Zeit-Mengen-Kurven lassen sich auch Schlüsse auf die Beziehung der entstandenen Produkte zu einem weiterführenden Abbau ziehen. Bei meinen Untersuchungen beschränkte ich mich im wesentlichen auf die Substanzen, die selbst oder deren Abbauprodukte im natürlichen Indolstoffwechsel des Blumenkohls vorliegen.

I. Material und Methode

1. Lösung der Indolverbindungen

Die Konzentration der verwendeten Lösungen betrug $5 \cdot 10^{-3}$ Mol in 1/50 Mol KH_2PO_4. Die Verbindungen wurden zuerst in wenig Äthanol gelöst und dann zu der entsprechenden Menge Phosphatlösung hinzugefügt. (Endkonzentration des Äthanols höchstenfalls 2%.) Der p_H-Wert der Lösung lag bei etwa 5,5.

Die Aufnahme von β-Indolylessigsäure erfolgt direkt proportional der Konzentration der Außenlösung (SUTTER 1944; MICHEL 1957; ANDREAE u. VAN YSSELSTEIN 1960). Daher wurde die Konzentration der Indolverbindungen so hoch gewählt, daß die Menge der enzymatisch entstehenden Produkte um ein Vielfaches größer war als die im Gewebe nativ vorkommenden Indolverbindungen. Auf diese Weise lagen die natürlichen Indolverbindungen des Blumenkohls im Extrakt in so geringen Mengen vor, daß sie mit den Sprühreagentien nicht nachgewiesen werden konnten. So störten sie die Auswertung der Abbauprodukte nicht.

Gegen die Bakterieninfektion während der Versuche bewährte sich ein Zusatz von Penicillin-G-Kalium (Bayer). Die Konzentration in der Lösung betrug 10^{-5} Mol.

2. Blumenkohlgewebe

Als Versuchsmaterial diente das von den dicken Stengeln befreite fleischige Gewebe des Blütenstandes ausgewachsener Blumenkohlrosen des Handels. Dieses wurde in etwa 0,5 cm große Stücke zerschnitten. (100 g Frischmaterial hatten ein mittleres Trockengewicht von 10,8 g; also einen Wassergehalt von etwa 89,2% des Frischmaterials.)

3. Durchführung der Versuche

50 g frisch zerkleinertes Gewebematerial wurde in einem 300-ml-Erlenmeyer-Kolben mit 200 ml Lösung übergossen. Der Ansatz blieb unter leichtem Schütteln 24 Std im Dunkelthermostaten (25° C $\pm$ 1° C). Am Ende der Einwirkungszeit waren die Lösungen noch klar und zeigten keine Verfärbung; die Gewebestücke hatten die gleiche frische Farbe wie zu Versuchsbeginn.

4. Kontrollen

Parallel zu allen Versuchen wurden zwei Arten von Kontrollen durchgeführt:

1. Pufferlösungen ohne Indolderivate wurden mit Gewebe zusammengegeben. Nach der Extraktion dieses Gewebes durften bei der Chromatographie keine Zonen auftreten. Auf diese Weise konnte geprüft werden, ob der Extrakt wirklich stark genug verdünnt war, daß die nativen Indolverbindungen auf den Chromatogrammen nicht mehr in Erscheinung treten konnten.

2. Die Lösungen der Indolverbindungen ohne Gewebe durften nach 24 Std außer der Zone des zugesetzten Stoffes keine weiteren Zonen zeigen.

5. Extraktion der Abbauprodukte aus dem Gewebematerial

Nach Beendigung der Einwirkungszeit wurde das Gewebematerial unter Leitungswasser, dann mit Äthanol und anschließend mit Aqua dest. gründlich abgespült, um eventuell außen anhaftende Lösungsreste zu beseitigen. Danach wurden zum Gewebe 20 ml konzentrierte $NaHCO_3$-Lösung zugesetzt, um die Pflanzensäuren zu neutralisieren und den Preßsaft nachher auf $p_H = 8$ zu bringen. Das Gewebe wurde darauf in einem Homogenisator zerkleinert und der Rohpreßsaft aus dem Homogenisat gewonnen, druckfiltriert und anschließend basisch und sauer mit Äther ausgeschüttelt. Die Methode wurde im 1. Teil dieser Veröffentlichung eingehend beschrieben.

6. Durchführung der quantitativen Bestimmungen

Bei jedem Versuch wurden in der im Abschnitt 3 beschriebenen Weise vier gleiche Ansätze gemacht, die 3, 6, 12 bzw. 24 Std im Thermostaten behandelt und darauf extrahiert wurden. Von jedem Ansatz wurden 35 ml des durch Druckfiltration gereinigten Rohpreßsaftes mit Äther basisch und sauer ausgeschüttelt. Der Äther wurde zur Trockene eingeengt und der jeweilige Rückstand mit 2 ml 96%igem Äthanol aufgenommen. Von diesem Extrakt wurden pro Chromatogramm 0,1 ml aufgetragen.

Die mit Perchlorsäure-Reagens besprühten und unter Standardbedingungen getrockneten Chromatogramme wurden mit dem Extinktionsschreiber II von Zeiß (Grünfilter FE 63) ausgewertet[1]. Die so erhaltenen Kurven habe ich planimetriert; die Planimetereinheiten (PlE) dienten als Vergleichsmaß für die Stoffmengen bei verschiedenen Einwirkungszeiten. Durch Vergleich mit den jeweiligen Eichkurven (Abb. 1 des ersten Teils dieser Veröffentlichung) konnten für die bekannten Substanzen auch direkt γ-Mengen angegeben werden[2].

7. Darstellung der Ergebnisse

Bei der Darstellung der Ergebnisse (Abb. 1—3 und 5) ist am linken Rand das Chromatogramm schematisch wiedergegeben; rechts schließen sich an die einzelnen Zonen die Kurven an, die über die jeweils vorhandene Menge des betreffenden Stoffes in γ oder Planimetereinheiten (PlE) Auskunft geben. Die in den Zonen der noch nicht identifizierten Substanzen angegebenen Farbangaben beziehen sich auf die Perchlorsäure-Reaktion. Bei den identifizierten Stoffen ist links neben der Zone die betreffende Substanz angegeben.

Um die Beschreibung der Ergebnisse zu vereinfachen, wurde für die Zeit-Mengen-Kurven, die nach einigen Stunden ein Maximum erreichen und dann wieder abfallen, die Bezeichnung *Gipfelkurven* gewählt (z. B. ICS in Abb. 2); Kurven, die zunächst mehr oder weniger steil ansteigen und sich alsdann asymptotisch einem Grenzwert nähern, der nicht mehr unterschritten wird, werden als *Sättigungskurven* (Akkumulationskurven) bezeichnet (z. B. IAM in Abb. 3).

---

[1] Das Gerät war durch Austausch des Graukeils speziell für die Auswertung von schwächeren und rötlich gefärbten Zonen umgebaut worden.

[2] Im Bereich bis zu 7 γ weisen die aufgestellten Eichkurven in der Regel nur eine geringfügige Krümmung auf. Um auch für unbekannte Substanzen, für die sich keine Eichkurven aufstellen lassen, Veränderungen in der Zeit angeben zu können, wurde in diesen Fällen die Farbintensitätszunahme als den Mengen direkt proportional angenommen.

II. Ergebnisse

1. Abbau der β-Indolylessigsäure (IES)

In den Extrakten des enzymatischen Abbaus der IES ließen sich mindestens 13 Zonen feststellen; davon entfielen 7 auf die saure und 6 auf die basische Fraktion (Tabelle 1). In beiden Extrakten lag beim

Tabelle 1. *Enzymatischer Abbau der synthetischen β-Indolylessigsäure (IES). R_f-Werte und Farbreaktionen der nach 24stündiger Inkubation von IES-Lösung in Blumenkohlrosengewebe entstandenen Indolverbindungen.* (Lösungsmittel: Isopropanol/Ammoniak/Wasser)

R_f-Wert	Sprühreagentien					Bemerkungen
	Perchlorsäure-Reagens	Dimethylaminobenzaldehyd	Vanillin	Zimtaldehyd	a) Benzidin b) 2,4-Dinitrophenylhydrazin	
			Saure Fraktion			
0,1	schwachrosa	gelblich	rötlich	braun	—	IAAS?
0,25—0,3	rosa	grauviolett	lila	braun	—	ICS und unbekannte Substanz
0,45	rosa	blauviolett	blauviolett	gelbbraun	—	IES
0,46	schwachorange				a) gelb b) gelbrötlich	IGyS?
0,6—0,65	rosa	gelbbraun	graurosa	rötlich	—	
0,8—0,83	schmutzigrosa	blauviolett	gelb	gelboliv	—	IAM
0,95	rosa	violett	grauviolett	hellbraun	—	
			Basische Fraktion			
0,45	rosa	blauviolett	blauviolett	gelbbraun	—	IES
0,65	rosa	violett	rötlich		—	
0,75	rosa	grauviolett	rosa	gelbgrün	—	
0,8—0,83	schmutzigrosa	blauviolett	gelb	gelboliv	—	IAM
0,85	—	—	—	—	a) gelb b) braun	IA
0,92	braunrosa	violett	schmutzigrosa	gelbgrün	—	W? (MELCHIOR)

R_f-Wert 0,45 eine starke IES-Zone vor[1]. Auch das IAM kam auf Grund seines neutralen Charakters in beiden Fraktionen vor.

In der *sauren Fraktion* konnte auf Grund ihrer charakteristischen Färbung mit Xanthydrol-Reagens beim R_f-Wert 0,25—0,3 die ICS

[1] Bei allen Abbauversuchen trat die zugesetzte Substanz infolge ihrer hohen Konzentration im Extrakt in beiden Fraktionen auf.

identifiziert werden. Die Färbung der Säure mit Perchlorsäure-Reagens wurde allerdings durch einen zweiten Stoff, der bei diesem R_f-Wert vorkommt, überdeckt. Daher erscheint diese Zone rosa und nicht orange gefärbt. Die quantitative Auswertung des ICS-Anteils dieser Zone bei verschiedenen IES-Inkubationszeiten (Abb. 1) konnte aus diesem Grunde nur indirekt erfolgen. Beim Vergleich der Intensitäten

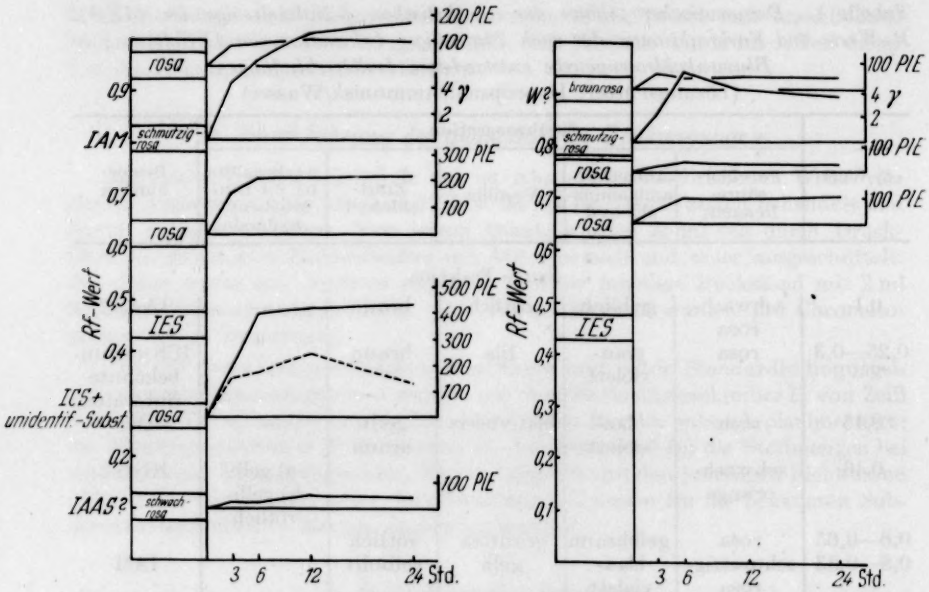

Abb. 1. Bestimmung der Mengen der nach verschiedenen Inkubationszeiten aus synthetischer β-Indolylessigsäure (IES) im Gewebe von Blumenkohlrosen entstandenen Indolverbindungen. Linke Abbildungshälfte: saure Ätherfraktion. Rechte Abbildungshälfte: basische Ätherfraktion. Jeweils 0,05 ml Extrakt pro Chromatogramm. Weitere Erklärungen s. im Text auf S. 484. Zur ICS-Kurve (unterbrochen gezeichnet) s. S. 485

der unmittelbar nach dem Sprühen mit Xanthydrol-Reagens auftretenden Färbungen zeigte sich, daß sie ungefähr mit den ICS-Mengen beim IAN-Abbau (Abb. 3) bei den entsprechenden Einwirkungszeiten übereinstimmten. Der ICS-Anteil der Zone 0,25—0,3 im IES-Abbau dürfte also ungefähr gleich der ICS-Menge im IAN-Abbau sein. Der größte Teil der Färbung ist demnach auf den noch unbekannten Stoff zurückzuführen.

Die zweite Komponente, die im R_f-Bereich 0,25—0,3 vorlag, könnte mit der von GOOD, ANDREAE und VAN YSSELSTEIN (1956) zwischen der IES und der IAAS gefundenen Zone übereinstimmen. BENNET-CLARK und WHEELER (1959) haben für den von ihnen zwischen der IES-Zone und der IAAS-Zone gefundenen Stoff „P" eine rosa oder rote Perchlorsäure-Reaktion angegeben. Diese Substanz „P" zeigt nach Angaben der Autoren übrigens genau wie meine rosa Komponente der Zone beim R_f-Wert 0,25—0,3 eine Mengenzunahme mit steigender Einwirkungszeit. Vielleicht darf man diese Übereinstimmung als einen weiteren Hinweis auf die Identität der beiden Substanzen deuten.

Als weiterer unbekannter Stoff kam beim R_f-Wert 0,1 eine schwach-rosa färbbare Zone vor. Wahrscheinlich liegt hier die IAAS vor, die verschiedentlich nach IES-Inkubation nachgewiesen werden konnte (ANDREAE u. Mitarb. 1955—1960, in Erbsenwurzeln und Erbsenepikotylen, in etiolierten Koleoptilen von Gerste, Hafer und Mais, in etiolierten Hypokotylen von Buchweizen und Sonnenblumen, in etiolierten Kartoffelsprossen und in Sproßteilen von Kohl und Tomaten; BENNET-CLARK u. WHEELER 1959, in Kartoffelscheiben; KUTÁČEK 1959, in Weizenembryonen; FANG, THEISEN u. BUTTS 1959, in Erbsen- und Maiskeimlingen; KLÄMBT 1961, bei Weizenkoleoptilzylindern; LIBBERT 1961, bei Erbsen). Die Identität meiner Zone mit der IAAS wäre aber erst nach einem Vergleich mit der synthetischen Substanz belegbar.

Weitere unbekannte Stoffe traten bei den R_f-Werten 0,46, 0,6—0,65 und 0,95 auf. Die Zone beim R_f-Wert 0,46 weist mit Benzidin-Reagens eine Gelbfärbung auf. MELCHIOR (1958) hat eine ähnliche Gelbfärbung in diesem R_f-Bereich auf das Vorliegen von IGyS zurückgeführt. Eine eindeutige Identifizierung der Substanz konnte jedoch bisher nicht durchgeführt werden, da keine Vergleichssubstanz zur Verfügung stand.

β-Indolylacetamid (IAM). Der Stoff der Zone 0,8—0,83 hatte in verschiedenen Lösungsmitteln den gleichen R_f-Wert wie synthetisches IAM. Auf Grund dieser Tatsache, der gleichen Farbreaktionen und dem gleichen Verhalten bei der Papierelektrophorese dürfte es sich um das IAM handeln. Der Verlauf der Zeit-Mengen-Kurve war der einer Sättigungskurve. Das ist nach dem Zusammenziehen der IAM-Kurven aus der sauren und der basischen Fraktion deutlich zu erkennen. Eine Erklärung für den Abfall der Kurve in der basischen Fraktion konnte bisher nicht gefunden werden.

Außer dem IAM kam in der *basischen Fraktion* der IA vor, was aus dem R_f-Wert, der Färbung mit Benzidin-Reagens (gelb) und mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (braun) hervorgeht.

Als Abbauprodukt der ICS dürfte der Stoff beim R_f-Wert 0,92 anzusehen sein. Er deckte sich mit der Zone „W ?" von MELCHIOR (1958). (Näheres darüber beim Abbau des IA und der ICS.)

Zwei weitere unbekannte Stoffe lagen bei den R_f-Werten 0,65 und 0,75 vor. Beide Stoffe nahmen mit zunehmender Inkubationszeit der IES zu; die Stoffe werden demnach gespeichert. Ihre Bildung ist wohl auf die besonderen Versuchsbedingungen zurückzuführen (überoptimale Konzentration der IES-Lösung).

Der enzymatische Abbau der IES durch Blumenkohlrosengewebe erfolgt (eventuell mit der IGyS als Zwischenprodukt) über den IA, die ICS und weiter unter Bildung von „W ?" (MELCHIOR 1958). Außer der IAAS und dem IAM zeigen noch weitere Produkte, die nach IES-Inkubation entstanden sind, in ihren Zeit-Mengen-Kurven einen Sättigungscharakter. Diese Art von Stoffen scheint mit einem weiterführenden Abbau der Indolverbindungen im Gewebe direkt nichts zu tun zu haben.

2. Abbau des β-Indolylaldehyds (IA) und der β-Indolylcarboxylsäure (ICS)

Um die Abbaustufen der IES zu analysieren, wurden Abbauversuche mit den beiden als synthetische Substanzen zur Verfügung stehenden

Abbauprodukte der IES — IA und ICS — durchgeführt. Als Reaktionsprodukte des IA konnten in der sauren Fraktion die ICS und in der basischen Fraktion ein Stoff beim R_f-Wert 0,92 nachgewiesen werden (Perchlorsäure-Reagens: braunrosa; Dimethylaminobenzaldehyd-Reagens: violett; Vanillin-Reagens: schmutzig-rosa; Zimtaldehyd-Reagens: gelbgrün; Benzidin- und 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Reagens: keine Reaktionen). Dieser Stoff konnte auch als einziges Abbauprodukt der synthetischen ICS nachgewiesen werden. Es handelt sich um die gleiche Substanz, die auch in der basischen Fraktion des IES-Abbaus vorkam. Der chromatographische Vergleich mit der Zone „W ?" (MELCHIOR 1958) ergab eine Übereinstimmung meiner Zone mit diesem noch unbekannten Stoff.

Bei der Inkubation des IA konnte nach 3 Std Einwirkungszeit in der sauren Fraktion pro Chromatogramm 3,6 γ ICS nachgewiesen werden. Die ICS-Menge stieg zunächst leicht an (6,4 γ bei 6 Std) und sank nachher wieder ab (5,6 γ bei 24 Std). Die braunrosa Zone beim R_f-Wert 0,92 zeigte einen ähnlichen Verlauf (3 Std 100 Planimetereinheiten (PlE); 6 Std 203 PlE; 12 Std 200 PlE; 24 Std 150 PIE]. Es handelt sich demnach bei dieser Zone sicher um ein enzymatisches Abbauprodukt der ICS, das selbst einem weitergehenden Abbau unterliegt.

3. Abbau des Tryptophans (Tra)

Nach WILDMAN, FERRI u. BONNER (1947) liegt das p_H-Optimum für den enzymatischen Abbau des Tra bei 7,5. Bei diesem p_H ist aber die entstehende IES relativ unbeständig (TANG u. BONNER 1947). Aus diesem Grunde wurde der p_H-Wert von 5,5 auch für die Tra-Lösung beibehalten.

Tabelle 2. *Enzymatischer Abbau des synthetischen Tryptophans (Tra).* Weitere Erklärungen siehe bei Tabelle 1

R_f-Wert	Sprühreagentien					Bemerkungen
	Perchlorsäure-Reagens	Dimethylaminobenzaldehyd	Vanillin	Zimtaldehyd	a) Benzidin b) 2,4-Dinitrophenylhydrazin	
			Saure Fraktion			
0,2—0,25	grauviolett	lila	blauviolett	gelbbraun	—	Tra
0,3	orange	violett	rosa	gelb-orange	—	ICS
0,45	rosa	blau-violett	blauviolett	gelbbraun	—	IES
0,55	rosa	violett		gelb-orange	—	
			Basische Fraktion			
0,2—0,25	grauviolett	lila	blauviolett	gelbbraun	—	Tra
0,83	lila	rötlich	rosa		—	
0,85	—	—	—	—	a) gelb b) braun	IA
0,92	braunrosa	violett	schmutzig-rosa	gelblich-grün	—	W ? (MELCHIOR)

Beim Abbau des Tra (Tabelle 2) konnten die IES, deren Abbauprodukte der IA und die ICS und der Stoff „W ?" (MELCHIOR 1958) nachgewiesen werden.

Außerdem traten zwei weitere unbekannte Stoffe beim R_f-Wert 0,55 in der sauren Fraktion bzw. R_f-Wert 0,83 der basischen Fraktion auf.

Wie aus Abb. 2 hervorgeht, ergaben sowohl die entstehende IES als auch die ICS deutliche Gipfelkurven: Die IES durchlief ihr Maximum bereits nach 6 Std, während der Gipfel der ICS-Kurve erst nach etwa 12 Std erreicht wurde. Auch die Kurve der rosa Zone beim R_f-Wert 0,55 zeigte einen typischen Gipfel. Der Stoff „W ?" (MELCHIOR 1958) kam nur in so geringen Mengen vor, daß eine Zeit-Mengen-Kurve nicht aufgestellt werden konnte.

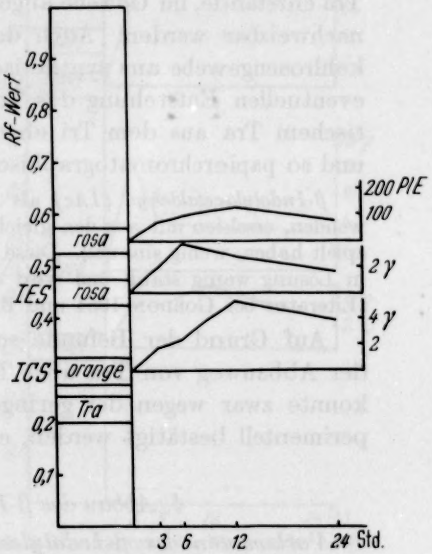

Abb. 2. Bestimmung der Mengen der nach verschiedenen Inkubationszeiten aus synthetischem Tryptophan (Tra) im Gewebe von Blumenkohlrosen entstandenen Indolverbindungen. Saure Fraktion des Ätherextraktes. 0,1 ml Extrakt pro Chromatogramm. Weitere Erklärungen s. auf S. 484

Versuche zum Reaktionsweg des Tryptophans (Tra) zur β-Indolylessigsäure (IES). Als Zwischenstufen können nach den Überlegungen von GORDON (1954 und 1956) das Tri oder die IBTS in Frage kommen. Keine der beiden Substanzen traten im Tra-Abbau in papierchromatographisch nachweisbaren Mengen auf. Es wurde untersucht, ob Blumenkohlrosengewebe in der Lage ist, synthetisches Tri bzw. synthetische IBTS in IES umzuwandeln.

Bekanntlich kann die *β-Indolylbrenztraubensäure (IBTS)* leicht in IES überführt werden. Wie aus der Literatur (S. 481) und aus eigenen Versuchen hervorgeht, wird sie z.T. schon beim Lösen in Wasser, besonders aber bei der üblichen Chromatographie in basischen Lösungsmitteln zu einer ganzen Reihe von Produkten zersetzt. Dabei entsteht in erheblichen Mengen die IES. Abbauversuche mit synthetischer IBTS erübrigten sich aus diesem Grunde.

Abbauversuche mit synthetischem *Tryptamin (Tri)* ergaben nur eine Zone beim R_f-Wert 0,9 der basischen Fraktion (Perchlorsäure-Reagens: violett; Dimethylaminobenzaldehyd: olivgrün; Vanillin: violett; Zimtaldehyd: olivgrün; Benzidin und 2,4-Dinitrophenylhydrazin: keine Reaktionen). Die Zeit-Mengen-Kurve dieser Zone zeigte einen deutlichen Anstieg bei steigender Einwirkungszeit. (3 Std 189 PlE; 6 Std 218 PlE; 12 Std 334 PlE; 24 Std 334 PlE.)

Die Zeit-Mengen-Kurve zeigt deutlich, daß es sich um kein eigentliches Abbauprodukt des Tri handelt, sondern um eine Substanz, die angereichert wird, die also höchstwahrscheinlich kein eigentliches Abbauprodukt darstellt. Die IES oder deren Abbauprodukte konnten auf den Chromatogrammen des Tra-Abbaus in keinem Falle festgestellt werden.

Infolge seiner relativ großen Stabilität gegenüber den Enzymen des Blumenkohls müßte das Tri, wenn es auch nur in geringen Mengen aus Tra entstände, im Gewebe angereichert und so papierchromatographisch nachweisbar werden. Auch der Stoff (R_f-Wert 0,9), der in Blumenkohlrosengewebe aus synthetischem Tri gebildet wird, müßte bei einer eventuellen Entstehung des Tri bei Inkubationsversuchen mit synthetischem Tra aus dem Tri ebenfalls gebildet, im Gewebe angereichert und so papierchromatographisch nachweisbar werden.

β-Indolylacetaldehyd (IAc) als Ausgangssubstanz für Abbauversuche zu verwenden, erschien mir aus den gleichen Gründen, die bei der IBTS eine Rolle gespielt haben, wenig sinnvoll. Diese Substanz ist nämlich ebenfalls in freier Form in Lösung wenig stabil und wird auch durch Enzyme leicht zur IES oxydiert (Literatur bei GORDON 1954 und BENTLEY 1958).

Auf Grund der Befunde scheidet unter den Versuchsbedingungen der Abbauweg von Tra über Tri aus; der Schritt vom Tra zur IBTS konnte zwar wegen der geringen Stabilität dieser Substanz nicht experimentell bestätigt werden, erscheint aber durchaus möglich.

4. Abbau des β-Indolylacetonitrils (IAN)

Vorkommen der β-Indolylessigsäure (IES) und von deren Abbauprodukten. Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, kam in der sauren Fraktion eine kräftige IES-Zone vor. Blumenkohlrosengewebe ist also in der

Tabelle 3. *Enzymatischer Abbau des synthetischen β-Indolylacetonitrils (IAN).* Weitere Erklärungen siehe bei Tabelle 1

R_f-Wert	Sprühreagentien					Bemerkungen
	Perchlorsäure-Reagens	Dimethylaminobenzaldehyd	Vanillin	Zimtaldehyd	a) Benzidin b) 2,4-Dinitrophenylhydrazin	
			Saure Fraktion			
0,3	orange	violett	rosa	gelborange	—	ICS
0,45	rosa	blauviolett	blauviolett	gelbbraun	—	IES
0,87	blaugrün	violett	gelb	gelb	—	IAN
			Basische Fraktion			
0,8	schmutzig-rosa	blauviolett	gelb	gelboliv	—	IAM
0,85	—	—	—	—	a) gelb b) braun	IA
0,87	blaugrün	violett	gelb	gelb	—	IAN

Lage, aus dem IAN die IES zu bilden. Außerdem fanden sich in der basischen Fraktion beim R_f-Wert 0,85 der IA und in der sauren Fraktion beim R_f-Wert 0,3 die ICS. Das Maximum der Zeit-Mengen-Kurve der IES lag hier — genau wie im Tra-Abbau (Abb. 2) — früher als das der ICS (Abb. 3); der Gipfel der IES-Kurve wurde bereits 3 Std früher als beim Tra-Abbau erreicht. Das dürfte darauf zurückzuführen sein, daß das IAN wegen seines neutralen Verhaltens und seiner Lipoidlöslichkeit schneller als das Tra in das Gewebe eindringen kann (vgl. THIMANN 1953).

Auftreten des β-Indolylacetamids (IAM). Beim R_f-Wert 0,8 der basischen Fraktion kam eine mit Perchlorsäure-Reagens schmutzigrosa reagierende Zone vor. Im Mischchromatogramm mit verschiedenen Lösungsmitteln und bei der Färbung mit einer Reihe von Sprühreagentien zeigte die Zone Übereinstimmung mit synthetischem IAM. Es darf also angenommen werden, daß es sich bei dieser Substanz um das IAM handelt. Die Menge an entstandenem IAM nahm mit steigender Einwirkungszeit zunächst stark zu und erreichte bald eine Sättigung.

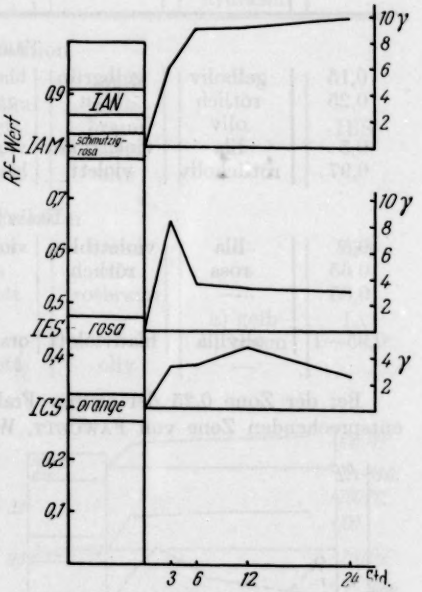

Abb. 3. Bestimmung der Mengen der nach verschiedenen Inkubationszeiten aus synthetischem β-Indolylacetonitril (IAN) im Gewebe von Blumenkohlrosen entstandenen Indolverbindungen. Saure Fraktion des Ätherextraktes. 0,05 ml Extrakt pro Chromatogramm. Weitere Erklärungen s. auf S. 484

5. Abbau der β-Indolylpropionsäure (IPS)

Von den beim enzymatischen Abbau der IPS entstehenden Zonen (Tabelle 4) konnte nur der in der basischen Fraktion vorliegende IA identifiziert werden. Daß die nachgewiesene IA-Zone eindeutig aus dem IPS-Abbau stammt, geht daraus hervor, daß die Kontrollen keinen IA enthielten.

MELCHIOR (1958) hat beim enzymatischen Abbau der IPS durch Weißkohl-Enzym außer einer IA-Zone eine mit Perchlorsäure-Reagens rot färbbare Zone (R_f-Wert = 0,99) gefunden. Sowohl in der sauren wie auch in der basischen Fraktion erhielt ich beim R_f-Wert 0,95—1 mit Perchlorsäure-Reagens eine rötlicholive bzw. olivlila Färbung. Infolge der Nähe der Lösungsfront konnte ich jedoch nicht eindeutig klären, ob es sich um den gleichen Stoff handelt, der Farbunterschied also nur als Konzentrationseffekt aufzufassen wäre. Die Zone beim R_f-Wert 0,97 der sauren Fraktion zeigte eine deutlich steigende Zeit-Mengen-Kurve (Abb. 4).

Tabelle 4. *Enzymatischer Abbau der synthetischen β-Indolylpropionsäure (IPS).* Weitere Erklärungen siehe bei Tabelle 1

R_f-Wert	Sprühreagentien: Perchlorsäure-Reagens	Dimethylaminobenzaldehyd	Vanillin	Zimtaldehyd	a) Benzidin b) 2,4-Dinitrophenylhydrazin	Bemerkungen
			Saure Fraktion			
0,15	gelboliv	gelbgrün	blauviolett	gelboliv	—	
0,25	rötlich oliv	blau	graublau	hellbraun	—	
0,5	lila	violettblau	violettblau	graubraun	—	IPS
0,97	rötlicholiv	violett	blauviolett	gelb	—	
			Basische Fraktion			
0,5	lila	violettblau	violettblau	graubraun	—	IPS
0,65	rosa	rötlich	rosa	hellbraun	—	
0,85	—	—	—	—	a) gelb b) braun	IA
0,95—1	olivlila	blauviolett	orangerosa	gelb	—	

Bei der Zone 0,25 der sauren Fraktion könnte vielleicht Identität mit der entsprechenden Zone von FAWCETT, WAIN u. WIGHTMAN (1958) herrschen. Die Zeit-Mengen-Kurve dieser Zone zeigte ein Maximum nach 3 Std Einwirkung, nachher fiel die Menge wieder ab.

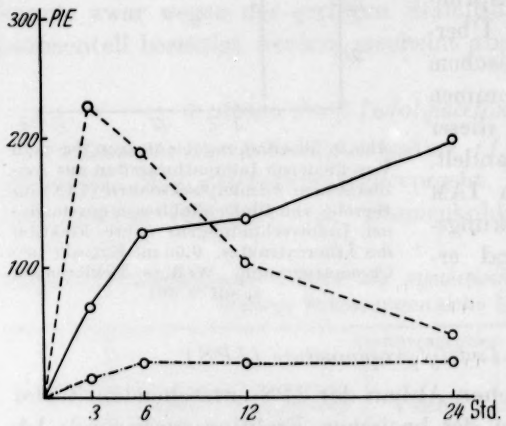

Abb. 4. Enzymatischer Abbau der synthetischen β-Indolylpropionsäure. Zeit-Mengen-Kurven der Zonen beim R_f-Wert 0,15 (o—·—o), R_f-Wert 0,25 (o— — —o) und R_f-Wert 0,97 (o————o) der sauren Ätherfraktion. 0,05 ml Extrakt pro Chromatogramm

ANDREAE u. GOOD (1957) haben bei ihren Versuchen mit Bohnenepikotylen eine Bildung der β-Indolylpropionasparaginsäure und des β-Indolylpropionamids gefunden. Die zwei diesen Stoffen entsprechenden Zonen könnten bei mir beim R_f-Wert 0,15 der sauren bzw. R_f-Wert 0,65 der basischen Fraktion vorliegen. Eine Klärung dieser Frage muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Die Zone beim R_f-Wert 0,15 zeigte — ähnlich der β-Indolylacetylasparaginsäure-Zone, die im β-Indolylessigsäure-Abbau wahrscheinlich gemacht wurde — einen Anstieg ihrer Zeit-Mengen-Kurve. Der Stoff lag immer nur in geringen Mengen vor.

6. Abbau der β-Indolylbuttersäure (IBS)

Ein Vergleich der Chromatogramme vom IES-Abbau (Tabelle 1) mit denen des IBS-Abbaus (Tabelle 5) zeigt bei der Perchlorsäure-

Tabelle 5. *Enzymatischer Abbau der synthetischen β-Indolylbuttersäure (IBS).* Weitere Erklärungen siehe bei Tabelle 1

R_f-Wert	Sprühreagentien: Perchlorsäure-Reagens	Dimethylaminobenzaldehyd	Vanillin	Zimtaldehyd	a) Benzidin b) 2,4-Dinitrophenylhydrazin	Bemerkungen
			Saure Fraktion			
0,12	rosa	oliv		gelb	—	
0,25	rosa	violett	rotbraun	gelb	—	
0,55	violett	violett	violett	braun	—	IBS
0,75	graurosa	olivbraun	lila	oliv	—	
0,95—1	rötlicholiv	violett	violett	oliv	—	
			Basische Fraktion			
0,55	violett	violett	violett	braun	—	IBS
0,7	rosa	violett	lila	oliv	—	
0,83	braunrosa	violett	violett	rotbraun	—	
0,85	—	—	—	—	a) gelb b) braun	IA
0,95—1	rötlicholiv	violett	violett	oliv	—	

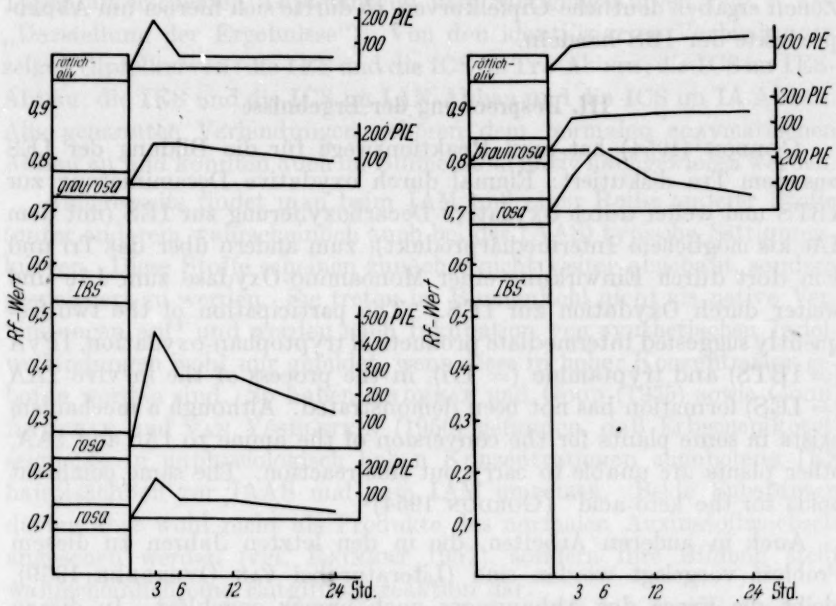

Abb. 5. Bestimmung der Mengen der nach verschiedenen Inkubationszeiten aus synthetischer β-Indolylbuttersäure (IBS) im Gewebe von Blumenkohlrosen entstandenen Indolverbindungen. Linke Abbildungshälfte: saure Ätherfraktion. Rechte Abbildungshälfte: basische Ätherfraktion. Jeweils 0,5 ml Extrakt pro Chromatogramm.
Weitere Erklärungen s. auf S. 494

Reaktion keine übereinstimmenden Zonen. In keinem Fall konnte ich beim IBS-Abbau im Bereich der IES eine Färbung finden. Als einziges

Produkt des IBS-Abbaus wurde in der basischen Fraktion der IA nachgewiesen. (Zum Vorkommen des IA vgl. Diskussion.)

Beim R_f-Wert 0,83 der basischen Fraktion trat eine Zone auf, die mit der ihr entsprechenden Zone des IES-Abbaus eine ähnliche Perchlorsäure- und Dimethylaminobenzaldehyd-Reaktion ergab. Dennoch handelt es sich offensichtlich nicht um das IAM, da die Vanillin- und Zimtaldehyd-Reaktionen andere Farben ergaben. Es scheint jedoch naheliegend, daß es sich um das von ANDREAE u. GOOD (1957) nachgewiesene β-Indolylbutrylamid handelt. Meine Substanz wanderte im elektrischen Feld nur wenig, dürfte also den neutralen Charakter eines Amids besitzen. Auch der Anstieg ihrer Zeit-Mengen-Kurve (Abb. 5) deutet darauf hin, daß es sich um einen Stoff handelt, der ähnlich dem IAM im Gewebe akkumuliert wird.

Einen vergleichbar ansteigenden Kurvenverlauf zeigt die Zone im R_f-Bereich 0,95—1,0 der basischen Fraktion (Abb. 5). Infolge der Nähe der Lösungsmittelfront besteht aber in diesem Fall durchaus die Möglichkeit, daß es sich hier um mehrere neutrale Stoffe handelt. Alle anderen Zonen ergaben deutliche Gipfelkurven, es dürfte sich hierbei um Abbauprodukte der IBS handeln.

III. Besprechung der Ergebnisse

GORDON (1954) hat zwei Reaktionswege für die Bildung der IES aus dem Tra diskutiert: Einmal durch oxydative Desaminierung zur IBTS und weiter durch oxydative Decarboxylierung zur IES (mit dem IAc als möglichem Intermediärprodukt), zum andern über das Tri und von dort durch Einwirkung einer Monoamino-Oxydase zum IAc und weiter durch Oxydation zur IES. "The participation of the two frequently suggested intermediate products of tryptophan-oxydation, IPyA (= IBTS) and tryptamine (= Tri), in the process of the in vivo IAA (= IES) formation has not been demonstrated. Although a mechanism exists in some plants for the conversion of the amine to IAc and IAA, other plants are unable to carry out this reaction. The same comment holds for the keto-acid" (GORDON 1954)[1].

Auch in anderen Arbeiten, die in den letzten Jahren zu diesem Problem vorgelegt worden sind (Literatur bei VAN OVERBEEK 1959), bleibt die Frage des Abbauweges noch immer ungeklärt. In diesen Arbeiten, besonders aber in den Veröffentlichungen von GORDON (1956) und DANNENBURG und LIVERMAN (1957), gilt aber die Bildung der IBTS (eventuell in gebundener Form) als wahrscheinlicher. Die IBTS konnte allerdings bisher in keinem Fall als Zwischenprodukt direkt

[1] Die in Klammern gesetzten Abkürzungen, wie sie in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden, wurden von mir in das Zitat eingefügt.

nachgewiesen werden. Sie dürfte sofort weiter zur IES abgebaut werden[1].

Von den beiden von GORDON (1954) angenommenen Reaktionswegen scheint mir für Blumenkohlrosengewebe der Weg über die IBTS der einzig mögliche zu sein; der Abbauweg über das Tri kann nämlich nach meinen Ergebnissen ausgeschlossen werden, da weder aus dem Tra in papierchromatographisch nachweisbaren Mengen Tri gebildet wird, noch synthetisches Tri zur IES abgebaut werden kann.

Beim enzymatischen Abbau der IES konnten der IA und als dessen Abbauprodukt die ICS nachgewiesen werden. Als weiteres Abbauprodukt, das auch beim Abbau von synthetischem IA und synthetischer ICS entsteht, somit ein weiteres Glied der Abbaukette zu sein scheint, wurde ein Stoff gefunden, der meines Erachtens mit „W ?" (MELCHIOR 1958) identisch sein dürfte.

Bei den Zeit-Mengen-Kurven der Produkte, die aus den einzelnen Indolverbindungen nach verschieden langer Infiltrationszeit im Gewebe von Blumenkohlrosen entstehen, lassen sich — wie erwähnt — zwei Typen unterscheiden: Gipfelkurven und Sättigungskurven (vgl. S. 484 „Darstellung der Ergebnisse"). Von den identifizierten Verbindungen zeigen Gipfelkurven: die IES und die ICS im Tra-Abbau; die ICS im IES-Abbau; die IES und die ICS im IAN-Abbau und die ICS im IA-Abbau. Alle genannten Verbindungen gehören dem normalen enzymatischen Abbau an und konnten auch im Blumenkohl nativ nachgewiesen werden.

Andererseits findet man beim IAM und einer Reihe anderer Stoffe (unter anderem wahrscheinlich auch bei der IAAS) typische Sättigungskurven. Diese Stoffe scheinen zunächst nicht weiter abgebaut, sondern gespeichert zu werden. Sie treten im Blumenkohl nicht als native Verbindungen auf[2] und werden nach Inkubation von synthetischen Indolverbindungen wohl nur gebildet, wenn diese in hoher Konzentration geboten worden sind. So haben ANDREAE und GOOD (1955) sowie GOOD, ANDREAE und VAN YSSELSTEIN (1956) gefunden, daß Erbsenepikotylsegmente in unphysiologisch hohen Konzentrationen angebotene IES hauptsächlich zur IAAS und zum IAM umsetzen. Beide Substanzen dürfen aber wohl nicht als Produkte des normalen Auxinstoffwechsels angesehen werden (vgl. REINERT 1957), sondern ihre Bildung stellt wahrscheinlich eine Entgiftungsreaktion dar.

Der Typus der Zeit-Mengen-Kurven der normalen Abbauprodukte läßt sich vielleicht aus den Aufnahmeverhältnissen der synthetischen Indolverbindungen durch das Gewebe erklären: Nach REINHOLD (1954) wirken bei der Aufnahme der

[1] Zum Teil vielleicht sogar direkt zum IA und zur ICS wie LIBBERT (1961) für den Tra-Abbau durch Erbsenenzyme vermutet.

[2] Einziger Nachweis der nativen IAAS von KLÄMBT (1960) in trockenen Samen einiger Pflanzenarten.

IES durch Bohnenepikotylsegmente und Karottenscheiben zwei verschiedene Prozesse zusammen: 1. Ein physikalischer Prozeß, der mehr einer Adsorption als einer reinen Diffusion gleicht; 2. ein Prozeß, der eng mit der Weiterverarbeitung im Stoffwechsel in Verbindung steht. Die beiden Aufnahmearten bestimmen die Form der IES-Aufnahme-Kurve. Diese zeigt zuerst (als Folge der starken primären physikalischen Aufnahme) ein typisches Maximum, dem später eine über längere Zeit sich erstreckende, aber bedeutend geringere Aufnahme folgt (wofür der Stoffwechselprozeß verantwortlich gemacht wird). (Vgl. hierzu auch BENNET-CLARK u. WHEELER 1959.) ANDREAE und VAN YSSELSTEIN (1960) haben diesen Befund bestätigt und festgestellt: "After the initial uptake is complete the rate of subsequent uptake of IAA is dependent upon the rate of its metabolic removal from the tissues."

Es ist demnach anzunehmen, daß bei verschiedenen Applikationszeiten auch verschieden große Mengen der freien inkubierten Indolverbindungen im Gewebe vorhanden sein werden. Das muß aber zur Folge haben, daß auch der enzymatische Abbau mit verschiedener Intensität vor sich geht.

Wenn man diese Zusammenhänge auch auf andere Indolverbindungen überträgt, besteht allgemein die Möglichkeit, aus dem Verlauf der Zeit-Mengen-Kurven zu schließen, ob die nachgewiesenen Substanzen Glieder des normalen weiterführenden Abbaus sind oder ob es sich um Produkte handelt, die eine ähnliche Rolle wie die IAAS oder das IAM im Stoffwechsel spielen.

In den Arbeiten von MICHEL (1957), SEELEY et al. (1956), THIMANN und MAHADEVAN (1958) und LIBBERT und BALLIN (1959) ist der Abbau des IAN zur IES und die enzymatische Natur dieses Abbaus bei einer Reihe von Pflanzen eingehend beschrieben worden. Problematisch ist immer noch die Stellung des IAM, das zunächst von verschiedenen Autoren (Literatur S. 482) als mögliches Intermediärprodukt angesehen wurde. Nach eingehenderen Untersuchungen konnte diese Hypothese jedoch nie bestätigt werden.

Bei der Infiltration von Blumenkohlrosengewebe mit $5 \cdot 10^{-3}$ Mol IAN-Lösung wurde unter meinen Versuchsbedingungen das IAM gebildet. Für die Entstehung sind drei Möglichkeiten denkbar: 1. als Intermediärprodukt, 2. als Konjugationsprodukt der entstandenen IES mit NH_3, 3. als Umwandlungsprodukt des IAN. Gegen die erste Möglichkeit spricht die Tatsache, daß das IAM als natives Indolderivat im Blumenkohl nicht vorkommt, obwohl auch hier sicherlich das IAN zur IES hydrolysiert werden dürfte. Weiter deutet die Zeit-Mengen-Kurve darauf hin, daß es sich nicht um eine Substanz handelt, die weiter abgebaut wird. (THIMANN und MAHADEVAN 1958 haben festgestellt, daß synthetisches IAM z. B. auch durch Avena-Koleoptilen kaum zur IES umgewandelt wird.) Das IAM wird vielmehr gespeichert. Auch die zweite Möglichkeit, daß das IAM ein Kongujationsprodukt der IES wäre, ist mit größter Wahrscheinlichkeit auszuschließen, da die IES nie die für die Bildung von Konjugationsprodukten erforderliche hohe Konzentration erreichen dürfte. Auch fehlen die anderen Produkte,

die in diesem Falle nach Infiltration von IES in hoher Konzentration entstehen (vgl. IES-Abbau) und deren Zeit-Mengen-Kurven eine Sättigung zeigen.

In Übereinstimmung mit den Befunden an anderen Pflanzen von STOWE und THIMANN (1954), SEELEY et al. (1956) und THIMANN und MAHADEVAN (1958) ist das IAM auch beim Blumenkohl auf keinen Fall als Intermediärprodukt des normalen IAN-Abbaus zur IES anzusehen. Es scheint mir vielmehr die Folgerung berechtigt, daß die Bildung des IAM — ähnlich den Konjugationsprodukten bei der IES-Infiltration — zur „Beseitigung bzw. Festlegung" des in das Gewebe eingedrungenen überschüssigen IAN dient.

FAWCETT, SEELEY, TAYLOR, WAIN und WIGHTMAN (1955) und FAWCETT, TAYLOR, WAIN und WIGHTMAN (1956 und 1958) haben mit Weizenkoleoptil- und Bohnenepikotyl-Gewebe und MELCHIOR (1958) hat mit Weißkohlenzym einen direkten Abbau des IAN zum IA und zur ICS gefunden. Das Vorkommen der IES im Abbau des IAN durch Blumenkohlrosengewebe schließt aber für dieses Objekt einen derartigen IAN-Abbau durch α-Oxydation aus. Blumenkohlrosengewebe wäre demnach zum „Brassica/Triticum"-Typus zu zählen, unter dem LIBBERT und BALLIN (1958) die Pflanzen zusammengefaßt hat, die das IAN zur IES hydrolysieren.

ANDREAE und GOOD (1957) haben in Bohnenepikotylen und FAWCETT, TAYLOR, WAIN und WIGHTMAN (1958) in Weizenkoleoptilen und Bohnenepikotylen nach Infiltration der IBS die IES feststellen können. Bei Blumenkohlrosen erhielt ich eine derartige IES-Bildung in papierchromatographisch nachweisbaren Mengen nicht. Es trat in meinen Versuchen lediglich eine geringe Menge IA auf. Das könnte allerdings darauf hindeuten, daß der IA als einziger Stoff einer Abbaukette erfaßt worden ist, in der auch die IES als Zwischenglied auftritt. Die Benzidin-Reaktion auf Aldehyde ist ja bekanntlich empfindlicher als die Perchlorsäure-Reaktion (vgl. Tabelle 1 des I. Teils der Veröffentlichung). Meines Erachtens dürfte es sich aber bei einem derartigen Abbau sicher nur um einen Nebenweg des IBS-Abbaus handeln, denn die vielen unbekannten Indolverbindungen, die auf Grund des Verlaufs ihrer Zeit-Mengen-Kurven als enzymatische Abbauprodukte der IBS anzusehen sind, sprechen für einen anderen Haupt-Reaktionsweg.

ANDREAE u. Mitarb. haben bei der Einwirkung von Bohnenepikotylen auf IES vor allen Dingen die IAAS und das IAM erhalten; bei der Verwendung der IPS bzw. der IBS erhielten sie homologe Produkte (β-Indolylpropylasparaginsäure, β-Indolylbutrylasparaginsäure, β-Indolylpropylamid, β-Indolylbutrylamid). Das Auftreten der IAAS scheint mir auch im IES-Abbau durch Blumenkohlrosengewebe wahrscheinlich zu sein. Im IPS-Abbau trat nämlich in der sauren Fraktion beim R_f-Wert

0,15 eine Zone auf, deren Zeit-Mengen-Kurve mit steigender Einwirkungszeit ansteigt. Ohne synthetische Vergleichssubstanz ist aber die denkbare Identität mit dem β-Indolylpropylamid nicht feststellbar. Eine entsprechende Zone im IBS-Abbau konnte nicht gefunden werden.

Ob die Asparaginsäure-Konjugationsprodukte für die Bindung der applizierten freien Indolverbindungen im Blumenkohlrosengewebe überhaupt eine untergeordnete Rolle spielen oder ob ihr geringeres Auftreten nur auf die besonderen Versuchsbedingungen (überoptimale Konzentration der applizierten Lösungen)[1] zurückzuführen ist, muß vorläufig offenbleiben. Weitere Untersuchungen zur Klärung dieser Frage sind geplant. In größeren Mengen traten Amid-Konjugationsprodukte[2] auf. Nach IES-Applikation konnte das IAM nachgewiesen werden; bei IPS-Einwirkung entstand beim R_f-Wert 0,65 der basischen Fraktion ein Stoff, der das β-Indolylpropylamid sein könnte. Bei der Substanz, die in der basischen Fraktion beim R_f-Wert 0,83 vorlag, sind gewisse Anzeichen vorhanden (R_f-Wert, einige Farbreaktionen und die Mengenzunahme mit steigender Einwirkungszeit der IBS), die darauf schließen lassen, daß es sich um das β-Indolylbutrylamid handeln könnte.

Außer diesen beiden Stoffgruppen konnten bei den Versuchen noch einige weitere Verbindungen mit Indolcharakter nachgewiesen werden, die ebenfalls gespeichert werden.

Zum großen Teil werden die applizierten Indolverbindungen zu Stoffen umgewandelt, die ihrerseits weiter abgebaut werden, also weiterführenden Abbauketten angehören. In den Abbauketten des Tra, der IES und des IAN konnten eine Anzahl von Indolderivaten nachgewiesen werden, die auch nativ im Blumenkohl vorkommen. Die Folgerung liegt daher nahe, daß es sich bei den Abbauketten um den natürlichen Abbauweg des Tra bzw. des IAN im Blumenkohl handeln dürfte.

Zusammenfassung

Die Umwandlung von Indolverbindungen ($5 \cdot 10^{-3}$ Mol in 1/50 Mol. KH_2PO_4) nach Inkubation in Gewebestücke von Blumenkohlrosen wurde papierchromatographisch und papierelektrophoretisch untersucht.

Bei der Einwirkung von Blumenkohlrosengewebe auf synthetische β-Indolylessigsäure entstehen folgende Indolderivate: β-Indolylaldehyd, β-Indolylcarboxylsäure, „W ?" (MELCHIOR 1958) und β-Indolylacetamid. Daneben kommen wahrscheinlich die β-Indolylglyoxylsäure und die β-Indolylacetylasparaginsäure vor.

[1] Nach den vor kurzem von ANDREAE u. VAN YSSELSTEIN (1960) und KLÄMBT (1961) erschienenen Arbeiten liegen die optimalen IES-Konzentrationen für die Bildung der IAAS bei 10^{-4} Mol für Erbsen-Epikotylen und $2 \cdot 10^{-4}$ Mol für Erbsenwurzelstücke bzw. $6 \cdot 10^{-4}$ Mol für Weizenkoleoptile.

[2] KLÄMBT (1961) sieht die Bildung des IAM als unbedeutende Nebenreaktion bei der Anwendung toxisch wirkender IES-Konzentrationen an.

Bei der Einwirkung des Blumenkohlrosengewebes auf den β-Indolylaldehyd entstehen die β-Indolylcarboxylsäure und der Stoff „W?" (MELCHIOR 1958).

Bei der Inkubation der β-Indolylcarboxylsäure bildet sich nur der Stoff „W?" (MELCHIOR 1958), der demnach ein weiteres Glied der β-Indolylessigsäure-Abbaukette darstellt.

Als Abbauprodukte des Tryptophans können die β-Indolylessigsäure, der β-Indolylaldehyd, die β-Indolylcarboxylsäure und der Stoff „W?" (MELCHIOR 1958) nachgewiesen werden. Der enzymatische Abbau des Tryptophans über die β-Indolylbrenztraubensäure und über den β-Indolylacetaldehyd wird diskutiert. Der enzymatische Abbau des Tryptophans über das Tryptamin kann für Blumenkohlrosen auf Grund der experimentellen Befunde ausgeschlossen werden.

Beim Abbau des β-Indolylacetonitrils wird die β-Indolylessigsäure, der β-Indolylaldehyd, die β-Indolylcarboxylsäure und das β-Indolylacetamid gebildet. Die Stellung des β-Indolylacetamids im β-Indolylacetonitril-Abbau wird diskutiert.

Bei der Einwirkung von Blumenkohlrosengewebe auf synthetische β-Indolylpropionsäure und synthetische β-Indolylbuttersäure konnte außer unidentifizierten Stoffen nur der β-Indolylaldehyd festgestellt werden.

Auf Grund von Versuchen über den zeitlichen Verlauf des Abbaus lassen sich nach Inkubation verschiedener synthetischer Indolverbindungen in Blumenkohlrosengewebe zwei Gruppen von Stoffen unterscheiden:

1. Es entstehen Indolderivate, die selbst weiter abgebaut werden, die also dem eigentlichen enzymatischen Abbau angehören. Diese Art von Indolverbindungen kann auch als nativ im Blumenkohl vorliegend nachgewiesen werden.

2. Es bilden sich — wahrscheinlich infolge der unphysiologischen Versuchsbedingungen (hohe Konzentration der applizierten Indolverbindungen) — Stoffe, die nicht weiter abgebaut, sondern im Gewebe gespeichert werden. Hierzu gehören das bei der Inkubation der synthetischen β-Indolylessigsäure und des synthetischen β-Indolylacetonitrils entstehende β-Indolylacetamid, die bei der β-Indolylessigsäure-Inkubation wahrscheinlich erhaltene β-Indolylacetylasparaginsäure sowie einige noch unidentifizierte Substanzen.

Die Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurden vom August 1956 bis zum März 1960 am Botanischen Institut der Justus Liebig-Universität in Gießen durchgeführt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. D. v. DENFFER, gilt mein herzlicher Dank für die Anregung zu dieser Arbeit und für die Unterstützung, die er mir während der Durchführung der Versuche zuteil werden ließ.

Literatur

ANDREAE, W. A., and N. E. GOOD: The formation of indoleacetylaspartic acid in pea seedlings. Plant Physiol. **30**, 380—382 (1955).

— — Studies on 3-indoleacetic acid metabolism. IV. Conjugation with aspartic acid and ammonia as process in the metabolism of carboxyl acids. Plant Physiol. **32**, 566—572 (1957).

—, and M. W. H. VAN YSSELSTEIN: Studies on 3-indoleacetic acid metabolism. III. The uptake of 3-indoleacetic acid by epikotyls and its conversion to 3-indoleacetylaspartic acid. Plant Physiol. **31**, 235—240 (1956).

— — Studies on 3-indoleacetic acid metabolism. VI. 3-indoleacetic acid uptake and metabolism by pea roots and epikotyls. Plant Physiol. **35**, 225—232 (1960).

AUDUS, L. J.: Plant growth substances. Plant science monographies. I. London 1959.

BENNET-CLARK, T. A., and A. W. WHEELER: The metabolism of 3-indoleacetic acid in plant tissues. J. exp. Bot. **10**, 468—479 (1959).

BENTLEY, J. A.: The naturally-occurring auxins and inhibitors. Ann. Rev. Plant Physiol. **9**, 47—80 (1958).

— K. R. FARRAR, S. HOUSLEY, G. F. SMITH and W. C. TAYLOR: Some chemical and physiological properties of 3-indolylpyruvic acid. Biochem. J. **64**, 44—49 (1956).

—, and S. HOUSLEY: Studies on plant growth hormones. I. Biological activities of 3-indolylacetaldehyde and 3-indolylacetonitrile. J. exp. Bot. **3**, 393—405 (1952).

DANNENBURG, W. N., and J. L. LIVERMAN: Conversion of tryptophane-2-C^{14} to indoleacetic acid by watermelon tissue slices. Plant Physiol. **32**, 263—269 (1957).

FANG, S. C., P. THEISEN and J. S. BUTTS: Metabolic studies of applied indoleacetic acid-1-C^{14} in plant tissues as affected by light and 2,4-D treatment. Plant Physiol. **34**, 26—32 (1959).

FAWCETT, C. H., H. F. TAYLOR, R. L. WAIN and F. WIGHTMAN: The degradation of certain phenoxy acids, amides, and nitriles within plant tissues. In: The chemistry and mode of action of plant growth substances, R. L. WAIN and F. WIGHTMAN, eds., p. 187—194. London: Butterworth Scientific Publ. 1956.

— — — — The metabolism of certain acids, amides and nitriles within plant tissues. Proc. roy. Soc. B **148**, 543—570 (1958).

— R. C. SEELEY, F. TAYLOR, R. L. WAIN and F. WIGHTMAN: α-oxydation of omega-(2,4-dichlorophenoxy)alkanenitriles and 3-indolylacetonitrile within plant tissues. Nature (Lond.) **176**, 1026—1028 (1955).

— R. L. WAIN and F. WIGHTMAN: Beta-oxidation of omega-(3-indolyl)alkanecarboxylic acids in plant tissues. Nature (Lond.) **181**, 1387—1389 (1958).

FISCHER, A.: Über die papierchromatographische und papierelektrophoretische Trennung von Indolderivaten. Planta (Berl.) **43**, 288—314 (1954).

GOOD, N. E., W. A. ANDREAE and M. W. H. VAN YSSELSTEIN: Studies on 3-indoleacetic acid metabolism. II. Some products of the metabolism of exogenous indoleacetic acid in plant tissues. Plant Physiol. **31**, 231—235 (1956).

GORDON, S. A.: Occurrence, formation and inactivation of auxins. Ann. Rev. Plant Physiol. **5**, 341—378 (1954).

— The biogenesis of natural auxins. In: The chemistry and mode of action of plant growth substances, R. L. WAIN and F. WIGHTMAN, eds., p. 65—75. London: Butterworth Scientific Publ. 1956.

—, and F. SANCHEZ-NIEVA: The biosynthesis of auxin in the vegetative pineapple. I. Nature of the active auxin. Arch. Biochem. **20**, 356—366 (1949).

— — The biosynthesis of auxin in the vegetative pineapple. II. The precursors of indoleacetic acid. Arch. Biochem. **20**, 367—385 (1949).

Jones, E. R. H., H. B. Henbest, G. F. Smith and J. A. Bentley: 3-indolylacetonitrile, a naturally occurring plant growth hormone. Nature (Lond.) **169**, 485—487 (1952).

Kaper, J. M., and H. Veldstra: On the metabolism of tryptophane by *Agrobacterium tumefaciens*. Biochem. biophys. Acta **30**, 401—420 (1958).

Klämbt, H. D.: Indol-3-acetylasparaginsäure, ein natürlich vorkommendes Indolderivat. Naturwissenschaften **47**, 398 (1960).

— Wachstumsinduktion und Wuchsstoffmetabolismus im Weizenkoleoptilzylinder. Reaktionsprodukte der IES in Abhängigkeit von den Inkubationskonzentrationen. Planta (Berl.) **56**, 309—321 (1961).

Kutáček, M., K. Rokosová and R. Řetovský: A study of metabolism of exogenous tryptophane and β-indoleacetic acid in extirpated wheat embryos. Biol. Plant (Praha) **1**, 54—62 (1959).

Larsen, P.: Formation, occurrence and inactivation of growth substances. Ann. Rev. Plant Physiol. **2**, 169—198 (1951).

Libbert, E.: Die enzymatische Auxinbildung aus Tryptophan unter Einfluß eines nativen Inhibitors. Planta (Berl.) **56**, 1—22 (1961).

—, und G. Ballin: Vorkommen, Wirksamkeit und fermentative Umsetzung des Indol-3-acetonitrils in verschiedenen Pflanzen. Naturwissenschaften **46**, 532—533 (1959).

Melchior, G. H.: Über den Abbau von Indolderivaten. I. Photolyse durch ultraviolettes Licht. Planta (Berl.) **50**, 265—290 (1957).

— Über den Abbau von Indolderivaten. II. Abbau durch ein Enzymsystem aus Weißkohl und ein Vergleich der Indolderivate in UV-bestrahlten und unbestrahlten Weißkohlpflanzen. Planta (Berl.) **50**, 557—575 (1958).

Meyer, J.: Die photolytischen Abbauprodukte der 3-Indolessigsäure und ihre physiologische Wirkung auf das Wachstum der Avena-Koleoptile. Z. Bot. **46**, 125—160 (1958).

—, u. R. Pohl: Neue Erkenntnisse zum Problem der phototropen Krümmung bei höheren Pflanzen. Naturwissenschaften **43**, 114—115 (1956).

Michel, B. E.: Growth responses of crucifers to indoleacetic acid and indoleacetonitrile. Plant Physiol. **32**, 632—639 (1957).

Müller, F.: Über die natürlichen Indolverbindungen im Blumenkohl. Planta (Berl.) **57**, 463—477 (1961).

Overbeek, J. van: Auxins. Bot. Rev. **25**, 271—350 (1959).

Pilet, P. E.: Action de l'acide β-indolyl-acétique du d,l-tryptophane et de l'hydrazide maléoque sur la croissance et le teneur eu auxines des racines. Bull. Soc. Bot. suisse **66**, 26—38 (1956).

Racusen, D.: Formation of indole-3-aldehyd by indoleacetic oxidase. Arch. Biochem. **58**, 508—509 (1955).

Reinert, J.: Wachstum. Fortschr. Bot. **20**, 257—265 (1957).

Reinhold, L.: The uptake of indole-3-acetic acid by epicotyl segments and carrot disks. New Phytologist **53**, 217—239 (1954).

Schwarz, K.: Espectros U.V. dos produtos da decomposiçao espontanea do ácido indolpirúvico. Arch. Inst. Biol. (S. Paulo) **24** (6), 81—91 (1957).

—, e A. A. Bitancourt: A decomposiçao espontanea de alguns cerivados indólicos. II. Ácido indolpirúvico. Arch. Inst. Biol. (S. Paulo) **24**, 183—197 (1958).

— — Paper chromatography of unstable substances. Science **126**, 607 (1957).

Seeley, R. C., C. H. Fawcett, R. L. Wain and F. Wightman: Chromatographic investigations on the metabolism of certain indole derivates in plant tissues. In: The chemistry and mode of action of plant growth substances, R. L. Wain and F. Wightman, eds., p. 234—247. London: Butterworth Scientific Publ. 1956.

Shaw, K. N. F., A. McMillan, G. A. Gudmundson and M. D. Armstrong: Preparation and properties of β-3-indolyl compounds related to tryptophan metabolism. J. org. Chem. **23**, 1171—1178 (1958).

Stowe, B. B.: Occurrence and metabolism of simple indoles in plants. Fortschr. Chem. organ. Naturstoffe **17**, 248—297 (1959).

—, and K. V. Thimann: The paper chromatography of indole compounds and some indole-containing auxins of plant tissues. Arch. Biochem. **51**, 499—516 (1954).

Stutz, R. E.: Enzymatic formation of indole-3-carboxaldehyd from indole-3-acetic acid. Plant Physiol. **33**, 207—212 (1958).

Sutter, E.: Die chemische Bestimmung des Heteroauxins und Versuche über seine Aufnahme durch die Pflanze. Ber. schweiz. bot. Ges. **54**, 194—244 (1944).

Tang, Y. W., and J. Bonner: The enzymatic inactivation of indoleacetic acid. I. Some characteristics of the enzyme contained in pea seedlings. Arch. Biochem. **13**, 11—25 (1947).

Thimann, K. V.: Hydrolysis of indoleacetonitrile in plants. Arch. Biochem. **44**, 242—243 (1953).

—, and S. Mahadevan: Enzymatic hydrolysis of indoleacetonitrile. Nature (Lond.) **181**, 1466—1467 (1958).

Wildman, S. G., M. G. Ferri and J. Bonner: The enzymatic conversion of tryptophane to auxin spinach leaves. Arch. Biochem. **13**, 131—144 (1947).

Dr. Franz Müller,
Institut für Landwirtschaftliche Botanik, Bonn, Meckenheimer Allee 176

Planta 57, 503—517 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

ÜBER DIE ANFANGSPHASEN DER GEOTROPISCHEN KRÜMMUNGSBEWEGUNG VON *AVENA*-KOLEOPTILEN*

Von

L. Brauner und A. Zipperer

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. Oktober 1961)

Einführung

Bringt man Graskoleoptilen aus der Vertikalstellung in die horizontale Reizlage, so beginnt die induzierte Bewegungsreaktion unter normalen Bedingungen niemals unmittelbar in der endgültigen negativen Richtung. Zuerst tritt stets eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Abwärtskrümmung auf; die eigentliche Aufwärtsbewegung kommt erst nach Ablauf dieser positiven Vorphase zur Entwicklung.

Dieses Phänomen ist schon lange bekannt. Es wurde nicht nur an Graskoleoptilen beobachtet (Polowzow 1909; Maillefer 1909, 1910, 1912; Weber 1927), sondern auch an dikotylen Keimsprossen (Bach 1907, Polowzow 1909) und selbst an Blattgelenken (Arslan 1949). Eine Kausalanalyse des Effekts ist bisher jedoch noch kaum versucht worden. So mußten die Deutungen des Mechanismus der positiven Bewegungsphase fast nur auf Vermutungen beschränkt bleiben. Zur Diskussion stand vor allem die naheliegende Möglichkeit eines passiven, mechanischen Absinkens der Organe durch ihr Eigengewicht (Maillefer, Polowzow). Erst Weber (1927) erwog auf Grund einiger seiner Beobachtungen an Haferkoleoptilen auch die Mitbeteiligung einer aktiven, physiologischen Komponente. Zur gleichen Auffassung gelangte später auch N. Arslan (1949) bei ihren Untersuchungen der osmotischen Zustandsgrößen geotropisch gereizter Blattgelenke von *Phaseolus vulgaris*.

In der vorliegenden Studie wird nun versucht werden, an Haferkoleoptilen einige experimentelle Grundlagen zum Verständnis der ersten Phasen ihrer geotropischen Bewegung zu gewinnen. Die Untersuchung soll in erster Linie eine Entscheidung darüber ermöglichen, ob die positive Anfangsstufe passiver oder aktiver Natur ist.

Methodik

Als Versuchsobjekt wurden Koleoptilen einer Hochzuchtrasse von *Avena sativa* (Maurer Weißhafer) verwendet. Je 3—4 Körner wurden in kleine, mit feuchter Gartenerde gefüllte Zylindergläschen (40 mm hoch, 20 mm weit) eingepflanzt. Die Kulturen kamen sodann in einen elektrischen Thermostaten, in dem

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

sie bei einer Temperatur von 23°C und 60—70% rel. Feuchte etwa 2 Tage verblieben. Nach dem Heraustreten der Koleoptilen wurden die Pflanzen 2 Std mit Rotlicht (Leuchtstoffröhren Philips TL 40 W/15, A 032) bestrahlt, um ein Auswachsen des Mesokotyls zu verhindern. Danach verblieben die Keimlinge wieder im Dunkelbrutschrank, bis die Koleoptilen eine Länge von etwa 25 mm erreicht hatten. In diesem Zustand kamen die Pflanzen für die Versuche zur Verwendung. Es wurden nur gut guttierende Koleoptilen ausgewählt, die völlig gerade und senkrecht gewachsen waren, und deren Primärblatt die Keimscheide nicht ganz ausfüllte.

Die Versuche wurden in einer annähernd temperaturkonstanten Dunkelkammer bei 22,5—23,0°C und 53—55% relativer Feuchte in der Zeit von März bis Oktober ausgeführt. Als Lichtquelle für die Beobachtungen diente die gleiche dunkelrote Leuchtstoffröhre wie für die Vorbestrahlung. Als Maß der Krümmungsreaktion wurde stets die vertikale bzw. horizontale Spitzenabweichung der Koleoptilen mit dem Horizontalmikroskop ermittelt. In Anbetracht der geringen Winkelwerte der zu untersuchenden Bewegungen war die Angabe dieser Meßgröße zweckmäßiger als die von Bogengraden. Innerhalb des Bereichs der zu prüfenden Reaktionen blieb der direkt ermittelte Tangenswert der entsprechenden Bogenlänge des Krümmungswinkels noch weitgehend proportional.

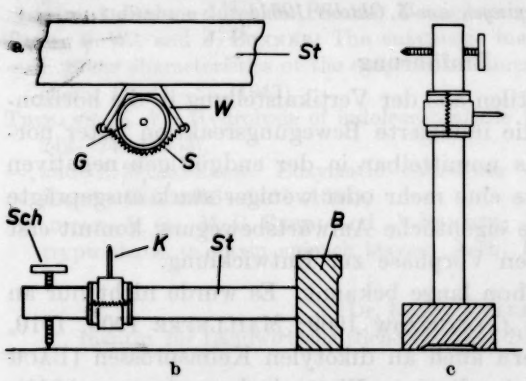

Abb. 1a—c. Kippstativ. a Befestigung der Versuchspflanze: *St* Stativstab, *W* Metallwinkel, *S* Spiralfeder, *G* Kulturgläschen. b Stativ in Horizontalstellung: *Sch* Stellschraube, *K* Koleoptile, *St* Stativstab, *B* Bleifuß. c Stativ in Vertikalstellung

Zur Befestigung der Versuchspflanzen wurde ein besonderes Stativ verwendet, das deren Überführung aus der Vertikal- in die Horizontallage mit einem Handgriff gestattete (Abb. 1). Es bestand aus einem schweren, rechteckigen Bleifuß, der einen 20 cm langen Aluminiumstab trug. An diesem war ein Aluminiumwinkel angeschraubt, in den das Kulturgläschen mit einer Spiralfeder quer zum Haltestab eingespannt werden konnte (Abb. 1). Eine Stellschraube am oberen Ende des Stabes ermöglichte eine genaue Justierung des Stativs in seiner Horizontalstellung.

Zur Beobachtung des Reaktionsverlaufs dienten Horizontalmikroskope von Leitz und von Winkel mit 100teiligem Okularmikrometer. Ihre Meßgenauigkeit betrug 5—6 μ. Die optische Einstellung der Pflanzen nach einem Stellungswechsel erforderte etwa 30 sec. Daher ließen sich mit der beschriebenen Anordnung die Vorgänge während der ersten Minute in der neuen Lage nicht vollständig verfolgen. Wenn es darauf ankam, den ersten Beginn der Reaktion mitzuerfassen, wurde daher eine andere Versuchsanordnung verwendet: ein Meßmikroskop von J. Swift & Son, London, mit rechteckigem Schlittenstativrahmen, an dem das Versuchsobjekt unmittelbar befestigt werden konnte. Das ganze Gerät ließ sich zusammen mit der aufmontierten Pflanze um 90° kippen. Dadurch war es möglich, die Koleoptilspitze schon vor dem Lagewechsel im Mikroskop einzustellen, und sodann unmittelbar nach dem Kippen mit der Messung zu beginnen.

Berechnung der Ergebnisse. Die in den Tabellen und Kurven wiedergegebenen Resultate sind Mittelwerte aus mindestens 10, in entscheidenden Fällen aus 20

Einzelmessungen. Der mittlere Fehler wurde nach der Gleichung $Fm = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n\,(n-1)}}$ berechnet.

Die Ergebnisse

1. Die Hauptphasen der vertikalen Spitzenbewegung nach dem Horizontallegen der Koleoptile

Die erste Versuchsreihe soll zunächst das Verhalten der Koleoptile nach ihrer Übertragung in die Horizontallage zeigen. In Abb. 2 ist der Reaktionsverlauf während der ersten 40 min dargestellt. Der Kurve liegen 15 Einzelmessungen zugrunde. Die Ausgangslänge der Koleoptilen betrug stets 25 mm. Die Keimlinge waren so orientiert, daß die kürzere Querschnittsachse der Koleoptile senkrecht stand und das Korn oben lag. Die Bewegung wurde während der ersten halben Stunde alle 2,5 min registriert, danach alle 5 min.

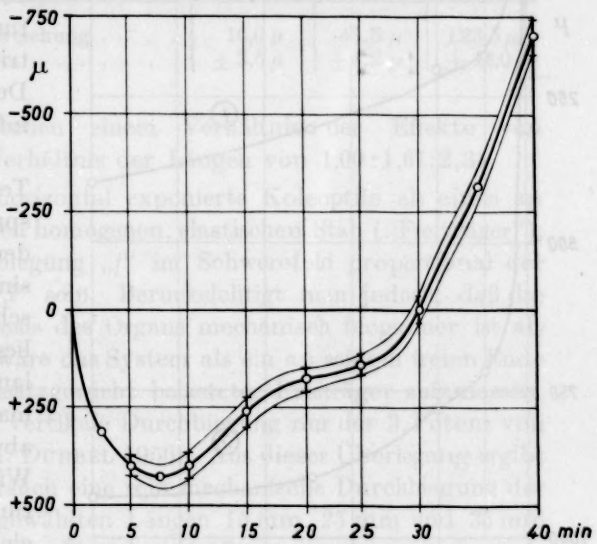

Abb. 2. Verlauf der vertikalen Spitzenbewegung während der ersten 40 min nach dem Horizontallegen der Koleoptile. Abszisse: Zeit in Minuten, Ordinate: Weg in μ. Schraffiertes Feld: Streuungsband des einfachen mittleren Fehlers

Aus dem Verlauf der Reaktionskurve ist zu ersehen, daß die Koleoptile unmittelbar nach ihrer Horizontalstellung absinkt. Nach etwa 7,5 min hat die Spitze den tiefsten Punkt erreicht, etwa 0,4 mm unter der Ausgangslage. Dann setzt die Aufwärtsbewegung ein. Ihre Geschwindigkeit ist anfangs verhältnismäßig groß. Schon 15 min nach Beginn des Versuchs verlangsamt sich jedoch der Anstieg wieder merklich und kommt nach der 20. min vorübergehend fast zum Stillstand. Nach der 25. min beginnt schließlich eine erneute, lebhafte Aufwärtskrümmung, die nach 5 min bereits die Ausgangsstellung erreicht und dann zur endgültigen negativen Reaktion führt. Es lassen sich demnach die folgenden 4 Stadien der Bewegung unterscheiden:

1. Positive Anfangsphase (bis zur 7,5. min).
2. Erste negative Phase (7,5.—20. min).
3. Vorübergehende Hemmung der Aufwärtsbewegung (20.—25. min).
4. Zweite negative Phase (nach der 25. min).

Dieser Verlauf der Reaktion ist charakteristisch für Haferkoleoptilen von 25 mm Länge bei 23°C und 50% relativer Feuchte.

2. *Die positive Anfangsphase*

An der Anfangsbewegung einer horizontal exponierten, wachstumsfähigen Koleoptile können zwei grundsätzlich verschiedene Faktoren beteiligt sein: eine aktive, tropistische Krümmung, hervorgerufen durch Wachstums- oder Turgorasymmetrien, oder aber eine passive Durchbiegung des Organs infolge seines Eigengewichts.

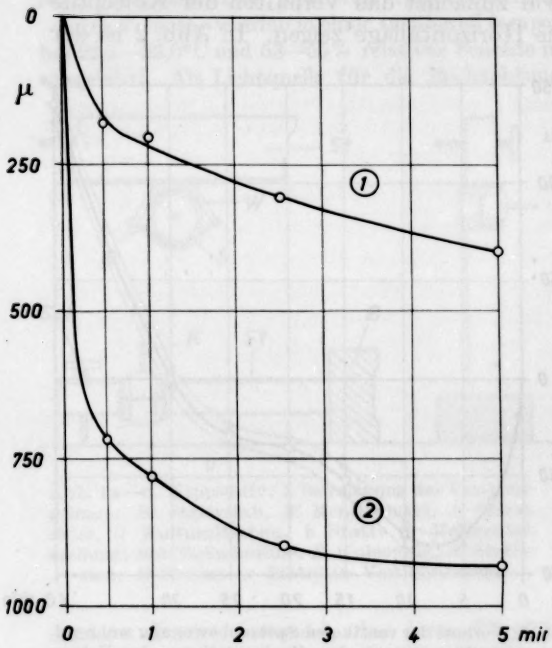

Abb. 3. *1* Positive Anfangsphase der Spitzenbewegung während der ersten 5 min nach dem Horizontalstellen. *2* Verlauf der horizontalen Spitzenbewegung vertikaler Koleoptilen unter der Wirkung einer Zugspannung von 100 mg. Abszisse: Zeit in Minuten, Ordinate: Spitzenabweichung in μ

Der Verlauf des ersten Teils der Reaktionskurve spricht zunächst dafür, daß der Anfangsphase des Absinkens eine rein mechanische Deformation zugrunde liegt. Die verhältnismäßig lange Einstellungsdauer der maximalen positiven Spitzenabweichung steht nicht im Widerspruch zu dieser Deutung, wie der folgende Vergleichsversuch zeigt: Senkrecht stehende, 25 mm lange Koleoptilen wurden der deformierenden Wirkung einer definierten lateralen Zugkraft unterworfen. Zur Übertragung dieser Kraft diente ein unterhalb der Koleoptilspitze befestigter Seidenfaden, der über eine leicht bewegliche Rolle lief und an seinem freien Ende mit einem 100 mg-Gewicht belastet werden konnte. Die dadurch verursachte horizontale Spitzenabweichung ließ sich mit einem Horizontalmikroskop verfolgen. In Abb. 3 sind der zeitliche Verlauf der so erzeugten mechanischen Biegung und, zum Vergleich, der Beginn der positiven Krümmung im Schwerefeld in gleichem Maßstab nebeneinander dargestellt. Man sieht, daß die beiden Kurven in ihrer Gestalt weitgehend übereinstimmen. Auch bei horizontaler Belastung erreicht die Deformation erst nach mehreren Minuten ihren Maximalwert.

a) Einfluß der Koleoptillänge. Weitere Aufschlüsse waren von einem Vergleich des Verhaltens verschieden langer Koleoptilen nach ihrer Übertragung in die Horizontallage zu erwarten. Versuche mit 15 mm-, 25 mm- und 35 mm-langen Organen ergaben bei gleicher Orientierung die folgenden Maxima der Abwärtsbewegung:

	Länge		
	15 mm	25 mm	35 mm
Maximale positive Spitzenabweichung	16,0 μ	43,5 μ	123,5 μ
Fm	$\pm$3,5 μ	$\pm$4,2 μ	$\pm$12,0 μ

Diese Zahlen entsprechen einem Verhältnis der Effekte von 1,0:2,7 : 7,7 bei einem Verhältnis der Längen von 1,00:1,67:2,34.

Betrachtet man die horizontal exponierte Koleoptile als einen an seinem einen Ende fixierten homogenen, elastischen Stab („Freiträger"), so müßte dessen Durchbiegung „f" im Schwerefeld proportional der 4. Potenz seiner Länge „l" sein. Berücksichtigt man jedoch, daß die Mesokotylzone an der Basis des Organs mechanisch biegsamer ist als die Koleoptile selbst, so wäre das System als ein an seinem freien Ende durch ein konstantes Zusatzgewicht belasteter Freiträger aufzufassen. In diesem Fall würde die vertikale Durchbiegung nur der 3. Potenz von „l" proportional sein (vgl. DUBBEL 1956). Aus dieser Überlegung ergibt sich, daß in unserem Versuch eine rein mechanische Durchbiegung der Koleoptile bei den drei gewählten Längen 15 mm, 25 mm und 35 mm in folgendem Verhältnis zu „l" stehen müßte:

	Koleoptillänge „l"		
	15 mm	25 mm	35 mm
f proportional l^4	1,0	7,7	29,6
f proportional l^3	1,0	4,6	12,7
Gefunden	1,0	2,7	7,7

Die Vergleichszahlen zeigen, daß die Zunahme des beobachteten positiven Ausschlags mit der Koleoptillänge weit geringer ist, als dies bei einer rein mechanischen Durchbiegung zu erwarten wäre. — Bei diesen Versuchen muß allerdings berücksichtigt werden, daß die verglichenen drei Keimlingsgruppen auch in ihrem Alter verschieden waren. Es könnte daher damit zu rechnen sein, daß die Biegsamkeit der Koleoptilen mit zunehmender Länge abnimmt. Dagegen spricht jedoch, daß die *prozentuale* Abweichung der beobachteten Krümmungswerte von der

nach der Proportion $f = n \cdot l^3$ berechneten bei den 25 mm- und 35 mm-langen Koleoptilen fast gleich groß ist:

	l	
	25 mm	35 mm
$100 \times \frac{\text{gefunden}}{\text{berechnet}}$	58,7	60,6

Aus der Tatsache, daß die positive Anfangsbewegung in ihrem Maximum merklich geringer ist als eine rein mechanische Durchbiegung, muß

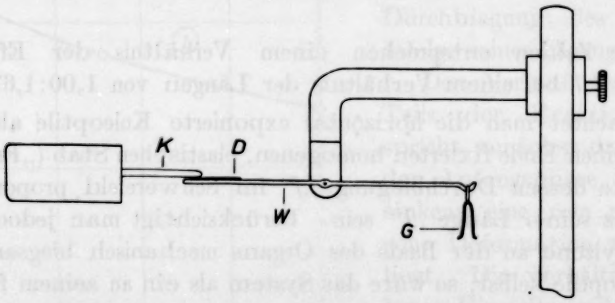

Abb. 4. Schema der Kompensationswaage. *K* Koleoptile, *W* Waagebalken, *D* Deckglas, *G* Gegengewicht

geschlossen werden, daß sie zu diesem Zeitpunkt bereits durch das Einsetzen einer aktiven Aufwärtsbewegung abgeschwächt ist. Aus diesen Versuchen ist jedoch die Beteiligung einer *positiv* geotropischen Komponente an der ersten Phase der Bewegung noch nicht zu ersehen.

b) Einfluß der Kompensation des Eigengewichts der Koleoptile. In den folgenden Versuchen wurde nunmehr die Natur der Abwärtsbewegung der Koleoptile nach ihrer Horizontalstellung direkt geprüft. Dazu war eine Vorrichtung notwendig, die das Eigengewicht des Organs kompensierte, ohne seine Eigenbewegung zu behindern. Dies ließ sich am einfachsten mit Hilfe eines kleinen waagenartigen Geräts erreichen, dessen Prinzip in Abb. 4 dargestellt ist. Die Spitze der horizontal befestigten Koleoptile ruhte auf einem als Waagschale dienenden Deckgläschen; das andere Ende des Waagbalkens wurde durch ein entsprechend gewähltes Reitergewicht belastet, das dem Auflagedruck der Koleoptilspitze entgegenwirkte. Bei der Wahl des anzulegenden Gewichts wurde von folgender Überlegung ausgegangen: Betrachtet man die horizontal gelegte Koleoptile wieder als einen „halbeingespannten Träger", so läßt sich berechnen, daß sein freies Ende mit $^3/_8$ seines gesamten Eigengewichts auf einer Unterlage lasten muß („Auflagedruck"). Berücksichtigt man die größere Biegsamkeit des Mesokotyls,

so dürfte das System eher einem starren Hebelarm an einem Drehgelenk entsprechen. In diesem Extremfall würde die Spitze ihre Unterlage mit $^1/_2$ des Gewichts des freien Hebelarms belasten (vgl. DUBBEL 1956). Da das Gesamtgewicht der untersuchten Koleoptilen zwischen 32 und 50 mg schwankte, wurde unter Berücksichtigung der geschilderten beiden Grenzfälle die Wirkung von zwei Gegengewichten untersucht: 12 mg und 25 mg.

Abb. 5 zeigt das Ergebnis. Zum Vergleich wurde in die Darstellung auch der Kurvenverlauf der Reaktion gleichlanger, nichtkompensierter Koleoptilen mit eingetragen. Es ist zu ersehen, daß bereits eine Entlastung mit 12 mg das Ausmaß der Abwärtsbewegung auf etwa $^1/_4$ des Normalwertes herabsetzt: 117 μ gegen 429 μ. Daraus muß geschlossen werden, daß bei den freistehenden Koleoptilen zumindest die Differenz, 312 μ, durch passives Absinken bedingt wird. — Aufschlußreicher ist jedoch der Gang der Bewegung bei Belastung der Waage mit 25 mg. Dieses Gegengewicht ist offensichtlich bereits größer als der Auflagedruck der Koleoptile, wie aus dem anfänglichen schwachen Hochsteigen der Spitze hervorgeht. Nach dieser zuerst erscheinenden negativen Phase setzt sich aber auch diesmal bald eine deutliche Abwärtsbewegung durch, deren aktive Natur hier wohl nicht zu bezweifeln ist, da sie ja bei ihrer Entwicklung den Gegendruck der Waagschale zu überwinden hat. Die positive Krümmung erreicht ihr Maximum bei den 25 mg-Versuchen erst nach 12—13 min, also etwa 5 min später als bei Belastung mit 12 mg. Dies liegt vermutlich daran, daß hier erst die mechanisch erzwungene negative Vorphase überwunden werden muß. Der Verlauf der positiven Krümmungsphase ist jedoch in beiden Fällen sehr ähnlich. Dieses Ergebnis spricht dafür, daß auch an der positiven Bewegung freistehender Koleoptilen eine aktive Komponente mitbeteiligt sein dürfte.

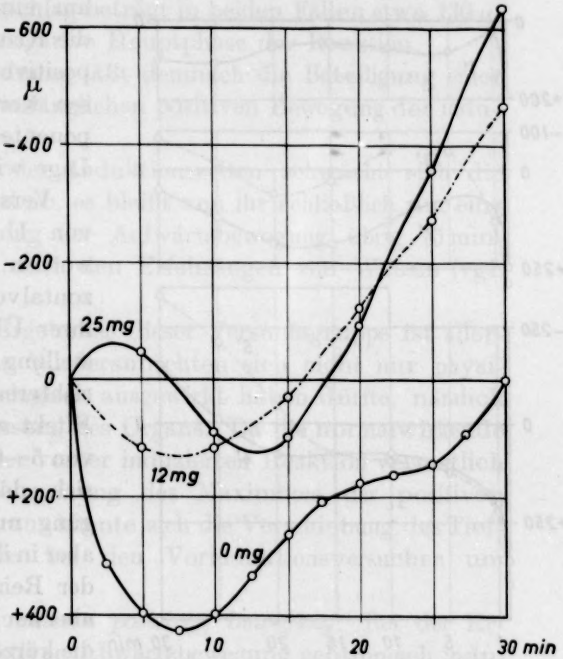

Abb. 5. Einfluß der Entlastung horizontal gestellter Koleoptilen auf den Verlauf der Anfangsphasen der Spitzenbewegung. Angelegte Gegengewichte: 0 mg, 12 mg und 25 mg. Abszisse: Zeit in Minuten, Ordinate: vertikale Spitzenbewegung in μ

c) Verlauf der Nachkrümmung induzierter Koleoptilen nach ihrer Rückführung in die Vertikalstellung. Ein anderer Weg zum Nachweis einer aktiven Komponente der anfänglichen Abwärtsbewegung besteht darin, daß man den Keimling nach sehr kurzer horizontaler Induktion wieder senkrecht stellt. Auf diese Weise läßt sich die Durchbiegung der Koleoptile unter ihrem Eigengewicht während des Beginns der Reaktion am einfachsten vermeiden. Setzt die Krümmung auch dann mit einer positiven Phase ein, so darf geschlossen werden, daß die gleiche Komponente auch in der horizontalen Lage wirksam ist.

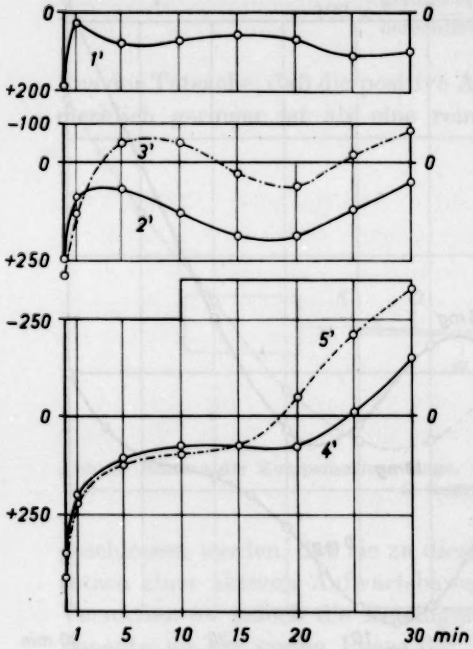

Abb. 6. Nachkrümmungen verschieden lange vorinduzierter Koleoptilen nach ihrer Rückführung in die Vertikalstellung. Induktionszeiten: 1 min, 2 min, 3 min, 4 min und 5 min. Abszisse: Zeit in Minuten, Ordinate: horizontale Spitzenabweichung in μ

Versuche dieser Art sind bereits von U. Weber (1927) angestellt worden. Er beobachtete, daß horizontal vorinduzierte Koleoptilen nach ihrer Überführung in die Vertikalstellung sofort eine negative „Aufrichtereaktion" ausführen. Dieser Effekt wurde nach Induktionszeiten von 5—60 min geprüft. Dabei zeigte sich, daß die anschließende Bewegung nur in ihrem Ausmaß, nicht aber in ihrer Richtung von der Dauer der Reizung abhing. Nun schließt aber nach unseren Erfahrungen selbst die kürzeste dieser Induktionszeiten, 5 min, bereits einen großen Teil der positiven Bewegungsphase ein. Es war daher notwendig, die Weberschen Versuche bei noch kürzerer Reizdauer zu wiederholen. Dazu mußte zunächst der Schwellenwert der geotropischen Induktion bei unseren Versuchsbedingungen festgestellt werden. Aus einer statistischen Ermittlung der Anzahl der Pflanzen, die nach verschieden langer Vorinduktion 40 min nach ihrer Rückführung in die Vertikalstellung bereits eine eindeutige negative Krümmung ($>0{,}25$ mm) erkennen ließen, ergab sich die Größe der Präsentationszeit. Sie betrug etwa *2 min*. Es erschien demnach zweckmäßig, die Nachwirkung von Expositionszeiten im Bereich von 1—5 min zu prüfen. Abb. 6 zeigt das Ergebnis. Auf einen 1 min-langen Reiz folgt nur ein Ausgleich der mechanischen Durchbiegung. Die anschließende Pendelbewegung überschreitet nicht das Ausmaß der normalen Nutation. Nach 2 min- und 3 min-langer

Induktion treten dagegen bereits eindeutige tropistische Reaktionen auf. Nach dem Wiederaufrichten gleichen die Koleoptilen auch hier wieder zunächst ihre mechanische Durchbiegung aus. Diese Phase ist nach 5 bzw. 7,5 min beendet. Auf sie folgt nun, wie bei den Kompensationsversuchen, eine deutliche Bewegung im positiven Sinne, die nach 2 min-Reizung etwa 12,5 min, nach 3 min-Reizung etwa 10 min lang andauert. Der maximale Ausschlag beträgt in beiden Fällen etwa 130 μ. Danach entwickelt sich die negative Hauptphase der Reaktion.

Auch diese Versuchsanordnung läßt demnach die Beteiligung einer aktiven Komponente an der anfänglichen positiven Bewegung der induzierten Koleoptilen erkennen.

Bei einer Verlängerung der Induktionszeiten schwächt sich die positive Vorphase weitgehend ab, es bleibt von ihr schließlich nur eine vorübergehende Unterbrechung der Aufwärtsbewegung übrig (5 min-Induktion). Dies entspricht auch den Erfahrungen von Weber (vgl. l. c., S. 44, Abb. 2).

Bei der Bewertung der Ergebnisse dieser Versuchsgruppe ist allerdings zu bedenken, daß das Wiederaufrichten sich nicht nur physikalisch, sondern auch physiologisch ausgewirkt haben dürfte, nämlich durch eine tonische Beeinflussung des Organs. Da die normalwirkende „Längskraft" den Ablauf einer vorher induzierten Reaktion vermutlich verzögert, ist mit einer Verspätung des Maximums der positiven Krümmung zu rechnen. Daraus könnte sich die Verschiebung des Tiefpunktes der Reaktionskurve bei den Vorinduktionsversuchen um 10—13 min erklären.

d) Der Mechanismus der aktiven positiven Bewegung. Bei der Erwägung der Ursachen der aktiven Abwärtsbewegung geotropisch induzierter Koleoptilen ist zunächst zu bedenken, daß die kurze Reaktionszeit und der verhältnismäßig schnelle Verlauf der Krümmung eine Beteiligung von Wachstumsvorgängen wohl ausschließen. Man wird daher eher an einen Mechanismus zu denken haben, der wie die Tropismen der Variationsgelenke in ihrer ersten Phase durch asymmetrische Veränderungen der Wasserpermeabilität gesteuert wird (vgl. M. Brauner 1933, L. Brauner 1948, Arslan 1949). Eine solche Veränderung der Diffusionswiderstände müßte zu einer entsprechenden Störung des dynamischen Gleichgewichts der Wasserversorgung führen und damit zu einer Asymmetrie der Verteilung des Turgors.

Ein Weg zur Prüfung dieser Möglichkeit ergibt sich aus der Beobachtung des Krümmungsverlaufs bei einer Umkehr des Saugkraftgefälles zwischen dem Organ und seinem Außenmedium. Werden Koleoptilen unter Wasser geotropisch exponiert, so müßte die Flanke, die wegen ihres verringerten Diffusionswiderstandes in Luft mehr Wasser verlieren würde, nunmehr leichter Wasser aufnehmen. Eine durch Veränderungen

der Wasserpermeabilität gelenkte Turgorbewegung sollte demnach unter diesen Bedingungen ihre Richtung umkehren.

Methodik. Zur Verwendung kamen intakte, bewurzelte Keimlinge in ihren Kulturgläsern. Die Erde wurde mit Lanolin abgedeckt. Als Versuchsgefäße dienten mit Leitungswasser gefüllte planparallele Cuvetten, in denen die Pflanzen mit ihren Gläschen horizontal befestigt werden konnten. Der Verlauf der Krümmung wurde wie in den bisherigen Versuchen mit dem Horizontalmikroskop beobachtet. Es erwies sich als vorteilhaft, die Keimlinge schon eine halbe Stunde vor

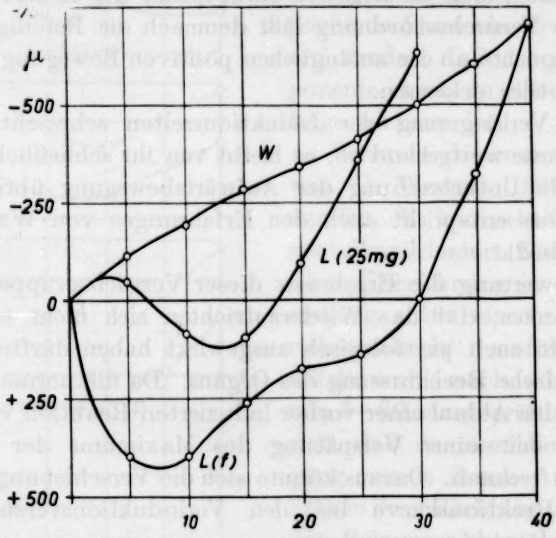

Abb. 7. Anfangsphasen der Krümmungsbewegung bei Exposition unter Wasser (*W*) und in Luft (*L*); (*f*) Koleoptilen freistehend, (*25 mg*) Koleoptilen mit 25 mg entlastet. Abszisse: Zeit in Minuten, Ordinate: vertikale Spitzenabweichung in μ

der Induktion senkrecht in Wasser zu stellen. Mit der Registrierung der vertikalen Spitzenbewegung wurde wie bisher unmittelbar nach der Übertragung der Pflanzen in die Reizlage begonnen.

Wie aus der graphischen Darstellung des Reaktionsverlaufs (Abb. 7) zu ersehen ist, setzt die Krümmung unter Wasser sogleich in negativer Richtung ein, die positive Vorphase fehlt hier gänzlich. — Nun muß bei diesen Versuchen allerdings eine mögliche Fehlerquelle berücksichtigt werden: Die teilweise mit Luft gefüllten Koleoptilen sind etwas leichter als Wasser. Es wäre daher denkbar, daß der dadurch bedingte mechanische Auftrieb die positive Bewegung einfach überlagert. Wenn man jedoch den grundsätzlich andersartigen Verlauf der früher beschriebenen Reaktion mechanisch entlasteter Koleoptilen in Luft vergleicht, so verliert diese Deutung an Wahrscheinlichkeit. In jenen Versuchen trat ja auch bei Überkompensation des Koleoptilgewichts (25 mg-Reihe!) eine zwar etwas verspätete, aber dennoch sehr deutlich entwickelte positive Vorphase der Krümmungsbewegung auf, die bei Exposition unter Wasser völlig fehlt.

Die nächstliegende Erklärung des beobachteten Krümmungsverlaufs bleibt demnach die Annahme einer Erhöhung der Wasserpermeabilität in der unteren Organflanke als erste physiologische Auswirkung der geotropischen Induktion. Unter Wasser muß sich dieser Effekt in einer frühzeitig einsetzenden Turgorsteigerung in der unteren Hälfte der Koleoptile, also in einer Aufkrümmung des Organs auswirken. Da die um die 25. min einsetzende Hauptphase der Reaktion gleichgerichtet ist, setzt sie hier die Vorphase harmonisch fort, die Krümmungskurve steigt während der gesamten 40 min-langen Beobachtungszeit fast linear an. Die leichte Zunahme ihres Anstiegswinkels zwischen der 20. und der 25. min läßt den Übergang der Vor- in die Hauptphase noch erkennen. Es ist auffällig, daß die Aufkrümmung der Koleoptilen unter Wasser beträchtlich langsamer erfolgt als in Luft. Für diesen Effekt dürften zwei Faktoren verantwortlich sein: zunächst die erhöhte Steifheit des in Wasser äußerst turgescent gewordenen Gewebes, die jeder Formveränderung des Organs größeren Widerstand entgegensetzt; ferner möglicherweise aber auch die Erschwerung der Sauerstoffversorgung unter Wasser, die verlangsamend auf den Ablauf der Bewegungsreaktion, vor allem in der Wachstumsphase, wirken dürfte.

3. Die erste negative Krümmungsphase

Bei der normalen geotropischen Reaktion in Luft folgt auf die positive Vorphase nach etwa 7,5 min eine Aufwärtsbewegung, die bis zur 20. min andauert: die erste negative Phase. Sie wird durch eine kurzfristige Ruhepause beendet, und erst nach deren Ausklingen setzt dann um die 25. min die endgültige negative Wachstumskrümmung ein: die zweite negative Phase.

Es war nun zu untersuchen, ob die erste negative Phase ihrem Wesen nach von der folgenden zweiten Phase der Aufwärtsbewegung grundsätzlich verschieden ist. Für diese Möglichkeit spricht schon die eben erwähnte Tatsache, daß unter natürlichen Bedingungen diese beiden Abschnitte des Krümmungsverlaufs durch eine Ruhepause voneinander getrennt sind. Wichtig ist ferner, daß in allen bisherigen Versuchen eine auffällige Beziehung zwischen dem Verlauf der positiven Anfangsphase und der anschließenden ersten negativen Krümmung zu bestehen scheint. Dieser Teil der Reaktion beginnt stets annähernd symmetrisch zur anfänglichen Abwärtsbewegung. Dies legt die Vermutung nahe, daß der Beginn der Aufkrümmung vom Verlauf der vorherigen positiven Reaktion bestimmt wird.

Die Abhängigkeit der ersten negativen Bewegung von der positiven Vorphase läßt sich in der Weise prüfen, daß man jede Abwärtskrümmung der Koleoptile durch eine feste Unterlage verhindert. Dies ließ sich durch ein Deckgläschen erreichen, das unmittelbar neben dem Keimling an einem dünnen Glasstab festgekittet war. Der Halter wurde

so justiert, daß das Deckglas die künftige Unterflanke der Koleoptile sanft berührte.

Abb. 8 zeigt das Ergebnis einer solchen Versuchsreihe. Aus der Reaktionskurve ist zu ersehen, daß bei Verhinderung der positiven Bewegung die Aufkrümmung später und merklich langsamer einsetzt als bei freistehenden Koleoptilen. Bis zur 20. min, dem Zeitpunkt also, zu dem bei diesen die erste negative Phase mit einer Aufwärtsbewegung

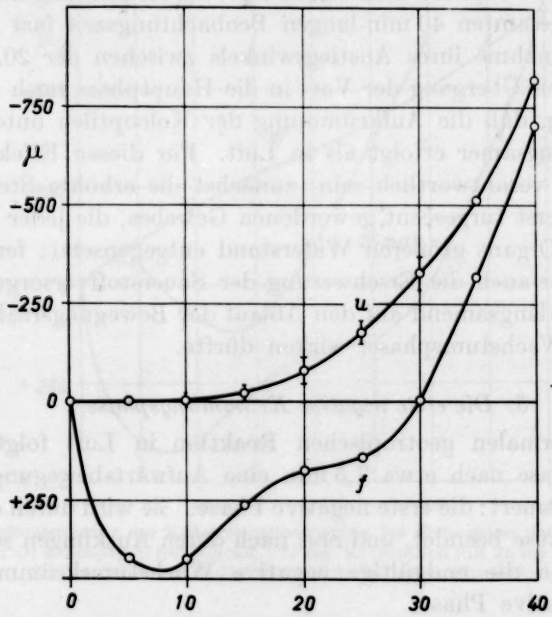

Abb. 8. *u* Anfangsphasen der Krümmungsbewegung bei Verhinderung der positiven Reaktion durch eine feste Unterlage. *f* Vergleichskurve freistehender Koleoptilen. Abszisse: Zeit in Minuten, Ordinate: vertikale Spitzenabweichung in μ

von insgesamt 2,53 mm bereits beendet ist, hat die Spitze der unterstützten Koleoptilen nur etwa $^1/_3$ dieser Strecke, 0,78 mm, zurückgelegt. Aus diesem Versuch geht demnach hervor, daß eine Unterdrückung der positiven Vorphase auch die Entstehung der ersten negativen Phase weitgehend verhindert. Der nach der 15. min beobachtete zunehmende Anstieg stellt, nach dem Verlauf der ganzen Reaktion zu urteilen, bereits den Beginn der zweiten, endgültigen Aufkrümmungsphase dar, die hier infolge der Verhinderung der positiven Anfangsstufe schon 10 min früher einsetzt als bei freien Koleoptilen. Für diese Interpretation spricht vor allem der völlig stetige Anstieg der Krümmungskurve, die keine Andeutung einer Zusammensetzung aus zwei Komponenten erkennen läßt.

Über die Natur der ersten negativen Phase läßt sich zunächst nur einiges vermuten. Die Tatsache, daß ihre Entwicklung an den vor-

herigen Ablauf einer Turgorbewegung gebunden ist, macht es wahrscheinlich, daß auch ihr ein osmotischer Mechanismus zugrunde liegt. Dafür spricht auch die verhältnismäßig kurze Reaktionszeit des Effekts (7,5 min). Da während dieser Phase die Bewegung unter Wasser in der gleichen, negativen Richtung erfolgt wie in Luft, kann für sie jedoch nicht wie für die vorangehende positive Krümmung eine Veränderung der Wasserpermeabilität verantwortlich sein. Es liegt daher nahe, das beobachtete Verhalten auf eine asymmetrische Veränderung der Saugkraft in den beiden Flanken des Organs zurückzuführen, die durch eine entsprechende Beeinflussung der Wanddehnbarkeit verursacht sein könnte. Reaktionen dieser Art sind an *Helianthus*-Hypokotylen bereits genauer untersucht worden (Brauner und Brauner 1961). Sie können in geotropischer Reizlage erstaunlich frühzeitig, bereits nach wenigen Minuten auftreten. Problematisch ist jedoch noch das Wesen der Wechselbeziehung zwischen der positiven Anfangsphase und der ersten negativen Reaktion. Die mechanische Blockierung der Abwärtsbewegung durch eine Unterlage dürfte die Entstehung der osmotischen Primäreffekte kaum verhindert haben. Geosaugkraft- und -dehnbarkeitsreaktionen treten bekanntlich auch auf dem Klinostaten und selbst in Zwangslage auf (vgl. Brauner und Brauner 1961). Die entscheidende Vorbedingung für den Ablauf der ersten negativen Krümmung kann demnach nicht die primäre geische Veränderung der osmotischen Zustandsgrößen sein. Wahrscheinlicher ist ein Zusammenhang mit der mechanisch- oder turgorbedingten Deformation, die sich nur im freistehenden Organ entwickeln kann. Zu denken wäre zunächst an eine mechanische Wasserauspressung aus der unteren Flanke des durchgebogenen Keimlings, vor allem im am stärksten beanspruchten Gewebe des Mesokotyls. Eine Überschlagsrechnung ergibt jedoch, daß das Gewicht der Koleoptile unter Berücksichtigung der wirksamen Hebellänge auf die untere Hälfte des Mesokotyls einen mittleren Druck von höchstens 0,05 atm ausüben kann. Da eine Belastung von dieser Größenordnung nur etwa 1% der Saugkraft des Gewebes entspricht, ist mit ihrem Einfluß auf das osmotische Gleichgewicht im System kaum zu rechnen. Demnach kommt als wirksamer Faktor wohl nur ein osmotischer Autotropismus in Betracht, der die anfängliche Deformation wieder auszugleichen strebt (Simon 1912). Über sein Wesen ist allerdings noch nichts bekannt.

Zusammenfassung

1. Die Krümmungsreaktion geotropisch induzierter Koleoptilen beginnt stets mit einer vorübergehenden Abwärtsbewegung. Erst auf diese etwa 7,5 min andauernde Anfangsphase folgt die Aufkrümmung, die in zwei Stufen abläuft. Die erste negative Phase endet nach der

20. min. Nach einer etwa 5 min-langen Pause setzt dann die zweite Phase der negativen Bewegung ein, die zur endgültigen Aufrichtung führt. — Die vorliegende Arbeit untersucht die Natur der positiven und der ersten negativen Phase der Reaktionsbewegung.

2. An der positiven Anfangsphase sind zwei Faktoren beteiligt: ein *passives* Absinken des Organs unter seinem Eigengewicht und eine *aktive* Krümmungsreaktion. Die mechanische Deformation ist vor allem in der besonders biegsamen Mesokotylregion lokalisiert, ihr Ausmaß hängt von der Länge der Koleoptile ab.

3. Die Mitwirkung einer aktiven Komponente an der Abwärtsbewegung läßt sich nach zwei Methoden nachweisen:

a) Durch Kompensation des Eigengewichts der Koleoptile in der Horizontallage mit Hilfe eines Waagenhebels.

b) Durch Wiederaufrichten des Keimlings nach kurzdauernder Induktion, so daß die Bewegungsreaktion bereits aus der Vertikalstellung erfolgt.

In beiden Fällen ist das Auftreten einer mechanischen Deformation ausgeschlossen. Dennoch beginnt die Reaktionsbewegung auch unter diesen Bedingungen mit einer positiven Vorphase.

4. Werden Koleoptilen unter Wasser exponiert, so bleibt die positive Vorphase aus. Statt dessen entwickelt sich sofort eine Reaktion in negativer Richtung. Dieses Verhalten macht es wahrscheinlich, daß der Mechanismus der normal auftretenden positiven Anfangsreaktion durch eine Erhöhung der Wasserpermeabilität in der unteren Organflanke ausgelöst wird. Ein solcher Effekt muß sich in Luft als einseitige Steigerung der Wasserabgabe, unter Wasser als eine entsprechende Förderung der Wasseraufnahme auswirken.

5. Die erste Phase der negativen Bewegung steht in Beziehung zur vorherigen positiven Reaktion. Wird die Abwärtskrümmung durch eine feste Unterlage verhindert, so setzt die Aufwärtsbewegung später und langsamer ein als bei freistehenden Koleoptilen. Sie entspricht dann in ihrem Verlauf bereits der zweiten negativen Phase. Die erste negative Phase ist hier also unterdrückt. Da ihre Entstehung an eine vorherige Deformation des Organs gebunden ist, scheint sie eine Auswirkung des Autotropismus zu sein.

Literatur

Arslan, N.: Studies on the geo-reactions of the primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul B **14**, 198—242 (1949).

Bach, H.: Über die Abhängigkeit der geotropischen Präsentations- und Reaktionszeit von verschiedenen Außenbedingungen. Jb. wiss. Bot. **44**, 57—123 (1907).

Brauner, L.: Untersuchungen über die phototropischen Reaktionen des Primärblattgelenks von *Phaseolus multiflorus* in weißem und in farbigem Licht. Rev. Fac. Sci. Univ. Istanbul B **13**, 211—267 (1948).

Brauner, L., u. M. Brauner: Versuche zur Analyse der geotropischen Perzeption. II. Mitteilung: Die Veränderung der osmotischen Saugkraft im Schwerefeld. Planta (Berl.) **56**, 416—437 (1961).

Brauner, M.: Untersuchungen über die Lichtturgorreaktion des Primärblattgelenkes von *Phaseolus multiflorus*. Planta (Berl.) **18**, 288—337 (1933).

Dubbel, H.: Taschenbuch für den Maschinenbau, 11. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

Maillefer, A.: Étude sur le géotropisme. Bull. Soc. vaud. Sci. natur., 5e Sér. **45**, 277—312 (1909).

— Étude sur la réaction géotropique. Bull. Soc. vaud. Sci. natur., 5e Sér. **46**, 235—254, 415—432 (1910).

— Nouvelle étude expérimentale sur le géotropisme etc. Bull. Soc. vaud. Sci. natur., 5e Sér. **48**, 411—537 (1912).

Polowzow, W.: Untersuchungen über Reizerscheinungen bei den Pflanzen. Jena: Gustav Fischer 1909.

Simon, S. V.: Untersuchungen über den autotropischen Ausgleich geotropischer und mechanischer Krümmungen der Wurzeln. Jb. wiss. Bot. **51**, 81—176 (1912).

Weber, U.: Untersuchungen über Wachstum und Krümmung unverletzter und halbierter Koleoptilen nach geotropischer Reizung. Jb. wiss. Bot. **66**, 35—108 (1927).

Prof. Dr. L. Brauner,
Botanisches Institut der Universität München 19,
Menzingerstr. 67

Planta 57, 518—530 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

DIE CHLOROPLASTENDREHUNG BEI *MOUGEOTIA*

III. DIE FRAGE DER LOKALISIERUNG DES HELLROT-DUNKELROT-PIGMENTSYSTEMS IN DER ZELLE

Von

GUDRUN BOCK und WOLFGANG HAUPT

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 11. September 1961)

Einleitung

Die „positiv phototaktische" Drehung des Chloroplasten von *Mougeotia* aus der Profil- in die Flächenstellung wird durch Lichtabsorption im „Phytochrom" vermittelt, dem Pigment des reversiblen Hellrot-Dunkelrot-Reaktionssystems (HAUPT 1959). Die Reaktion ist abhängig von der Schwingungsrichtung linear polarisierten Lichtes. Auf Grund umfangreicher Versuche mit polarisiertem Licht wurde die Vorstellung entwickelt, daß die Photoreceptor-Moleküle in der äußersten cytoplasmatischen Schicht oberflächenparallel orientiert sind (HAUPT 1960). Damit lassen sich zwar die Ergebnisse der genannten Untersuchungen befriedigend erklären, doch fehlt bis jetzt noch der eindeutige Beweis für diese Annahme.

Wegen der relativ großen Abmessungen der *Mougeotia*-Zellen erschien es uns möglich, eine Entscheidung durch Partialbelichtungen herbeizuführen, bei denen einmal das Cytoplasma allein, zum andern Cytoplasma und Chloroplast bestrahlt werden. Allerdings führten unsere Versuche nicht auf dem hier skizzierten direkten Weg zu der gewünschten Entscheidung, sondern erst nach mannigfacher Modifikation der Versuchsanordnung. Hierüber soll im folgenden berichtet werden.

Material und Methoden

Objekt war, wie in den vorausgegangenen Untersuchungen, *Mougeotia* spec., die seit mehreren Jahren im Botanischen Institut kultiviert wird (HAUPT 1959, 1960). Zur Durchführung der Partialbelichtung verwendeten wir das Mikrospektrophotometer von Carl Zeiss, Oberkochen, ohne den Photometeraufsatz (vgl. GÖSSEL 1957). Gemäß Abb. 1 erhalten wir in der Objektebene einen kreisrunden Lichtpunkt, dessen Größe durch Einstellung der geeigneten Lochblende zu 3, 6, 12 oder 24 μ ⌀ gewählt werden konnte. Da höchste spektrale Reinheit nicht erforderlich war, arbeiteten wir bei ganz geöffnetem Spalt (Spaltbreite 3 mm), wodurch wir bei Einstellung von 650 nm einen Wellenlängenbereich von 630—670 nm erhielten und die unter diesen Umständen höchstmögliche Intensität einstrahlten. Eine absolute Angabe der Intensität ist nicht möglich, aber auch nicht notwendig, da

der Energiebedarf unserer Reaktion bei *Totalbestrahlung* bereits früher festgestellt worden war.

Mit Hilfe eines halbdurchlässigen Spiegels stellten wir außerdem eine diffuse Beleuchtung des Gesichtsfeldes her, die durch Zwischenschalten der Sicherheitskombination (Schott-Filter BG 18, 4 mm + GG 14, 2 mm) nur unwirksames Grünlicht enthielt. Als Polarisator zur Erzeugung linear polarisierten Lichtes diente eine Polarex-Folie von KÄSEMANN.

Da wir im Gegensatz zu den früheren Untersuchungen nicht mehr die Wirkung einer einzigen Belichtung durch Auszählen vieler Zellen statistisch erfassen konnten,

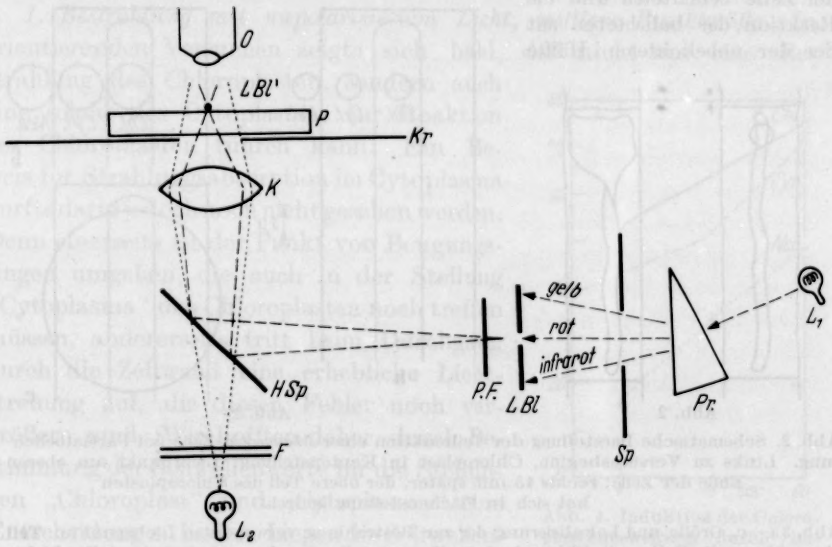

Abb. 1. Schematische Darstellung des Strahlenganges im Mikrospektrophotometer von Zeiss. Rechts Spektralapparat mit Lichtquelle L_1, Prisma *Pr*, Spalt *Sp*, Lochblende *LBl* und Polarisationsfolie *P.F.* Links unten Beleuchtungseinrichtung mit Spezialkondensor *K*, der die Lochblende in der Objektebene abbildet (*LBl'*), halbdurchlässigem Spiegel *HSp*, Lichtquelle für die allgemeine Gesichtsfeldbeleuchtung L_2 und Grünfilterkombination *F*. Links oben Mikroskop mit Kreuztisch *Kr*, Objektiv *O* (nur Frontlinse angedeutet) und Präparat *P*

sondern mit dem Lichtpunkt immer auf die Bestrahlung nur einer Zelle beschränkt waren, mußten wir die zu vergleichenden Bestrahlungen nacheinander an den Zellen eines einzelnen Fadens durchführen. Das brachte noch einige methodische Abweichungen mit sich. Da die Präparate auf dem Objekttisch des Mikroskops für längere Zeit der trockenen Luft der Umgebung ausgesetzt waren, mußte ein Wasserverlust durch Einrahmen der Deckgläser mit Vaseline verhindert werden. Außerdem achteten wir darauf, daß jedes Präparat nur 1—2 größere Fäden enthielt, so daß wir späterhin bei der Auswertung die einzelnen bestrahlten Zellen mit Sicherheit wieder identifizieren konnten. Das Richten der Chloroplasten in Kantenstellung durch seitliche Belichtung sowie die Sensibilisierung durch eine anschließende Dunkelperiode (hier: 30 min) entsprach im wesentlichen der früheren Versuchsanordnung (HAUPT 1959).

Mittels eines drehbaren Kreuztisches konnte das Objektträgerpräparat mit den *Mougeotia*-Fäden nach allen Richtungen bewegt und auf diese Weise eine genaue Lokalisierung des Lichtpunktes auf die zu bestrahlende Stelle vorgenommen werden.

Die Bestrahlung eines Präparates führten wir im allgemeinen über insgesamt etwa 30 min durch; bei der meist angewendeten Bestrahlungsdauer von 1 min je Einzelzelle konnten wir so etwa 20 Zellen eines Fadens unter weitgehend vergleichbaren Bedingungen bestrahlen. Die Auswertung nahmen wir meist etwa 30 min nach Bestrahlung der letzten Zelle vor; diese Zeit erwies sich für die Reaktion als ausreichend, zuweilen überzeugten wir uns nach einer weiteren $^1/_2$ Std, daß keine Änderungen mehr eingetreten waren.

Nach SENN (1908) reagiert der Chloroplast nur in dem Teil der Zelle, der vom Licht getroffen wird. Dies machten wir uns zunutze, indem wir ziemlich am Ende der Zelle belichteten und die Reaktion der belichteten mit der der unbelichteten Hälfte

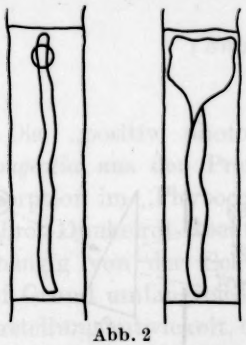

Abb. 2

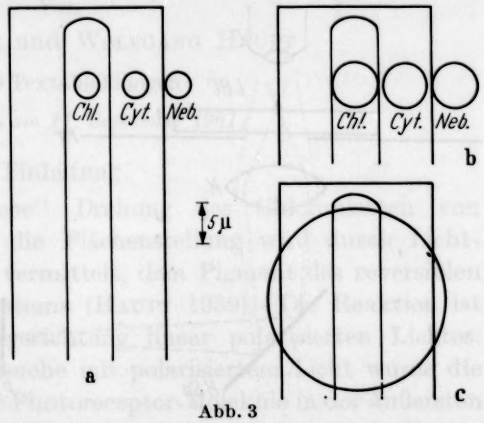

Abb. 3

Abb. 2. Schematische Darstellung der Teilreaktion einer *Mougeotia*-Zelle bei Partialbelichtung. Links zu Versuchsbeginn, Chloroplast in Kantenstellung, Lichtpunkt am oberen Ende der Zelle; rechts 45 min später, der obere Teil des Chloroplasten hat sich in Flächenstellung gedreht

Abb. 3a—c. Größe und Lokalisierung der zur Bestrahlung verwendeten Lichtpunkte. Teil einer *Mougeotia*-Zelle mit Chloroplast in Kantenstellung schematisch dargestellt, Lichtpunkt auf den Chloroplasten (*Chl.*), auf das Cytoplasma (*Cyt.*) oder neben die Zelle gesetzt (*Neb.*); a kleiner Punkt (⌀ 3 µ), b mittlerer Punkt (⌀ 6 µ), c großer Punkt (⌀ 24 µ)

verglichen (Abb. 2). Gelegentlich drehen sich Chloroplasten nämlich auch, ohne daß sie bestrahlt wurden — das entspricht dem früher angegebenen „Blindwert" von etwa 10%. Deshalb zählten wir eine Flächenstellung als Reaktion nur dann, wenn die andere (unbelichtete) Hälfte in Kantenstellung geblieben war; Zellen, in denen auch die unbelichtete Hälfte in Fläche gegangen war, wurden bei der Auswertung gestrichen. Außerdem gab uns das Verhalten der nicht belichteten Hälften insgesamt einen Anhalt für den „Blindwert", und wenn dieser 20% überstieg, verwarfen wir das ganze Präparat.

Aus der Bestrahlung von etwa 20 Zellen eines Fadens war natürlich noch kein einigermaßen verläßliches Ergebnis zu erwarten, auch nicht, wenn wir jedesmal nur 2—3 (höchstens 4) verschiedene Belichtungsarten miteinander verglichen (dann kamen auf jede Belichtungsart 5—10 Zellen). Deshalb mußten sämtliche Versuche eines Tages zu einem gemeinsamen Mittelwert zusammengefaßt werden. Dies war aber wiederum nur zulässig unter der Voraussetzung, daß die verschiedenen Belichtungsarten bei jedem einzelnen Faden zu annähernd gleichen Anteilen vertreten waren.

Über die Abmessungen der zur Verfügung stehenden Lichtpunkte (s. oben) im Vergleich zur Größe der *Mougeotia*-Zellen gibt Abb. 3 Aufschluß; aus Gründen, die später zu erörtern sind, verwendeten wir auch die größeren Punkte, die keine Differenzierung der Bestrahlungsstelle mehr erlauben. Abb. 3 zeigt ferner,

welche Partien der Zelle wir bestrahlten. Dabei ist diese Darstellung als Schema zu denken, da es unter den gegebenen Umständen nicht möglich war, die Lokalisierung genauer als auf ± 1—$2\,\mu$ vorzunehmen.

Um einerseits für die Belichtung des Präparates beide Hände frei zu haben und andererseits mit einem Minimum an Dunkelkammerbeleuchtung auszukommen, verwendeten wir zur Messung von Belichtungszeiten bis zu 1 min an Stelle einer Stoppuhr ein Metronom, dessen Sekundenschläge wir zählten.

Versuchsergebnisse

1. Bestrahlung mit unpolarisiertem Licht, mittlere Punktgröße. In orientierenden Versuchen zeigte sich bald, daß nicht nur eine Bestrahlung des Chloroplasten, sondern auch eine solche des Cytoplasmas zur Reaktion des Chloroplasten führen kann. Ein Beweis für Strahlungsabsorption im Cytoplasma durfte darin jedoch noch nicht gesehen werden. Denn einerseits ist der Punkt von Beugungsringen umgeben, die auch in der Stellung „Cytoplasma" den Chloroplasten noch treffen müssen, andererseits tritt beim Durchgang durch die Zellwand eine erhebliche Lichtstreuung auf, die diesen Fehler noch vergrößern muß. Wir hofften daher, durch Bestimmung der Schwellenwerte für die Stellungen „Chloroplast" und „Cytoplasma" eine Entscheidung zu finden. Liegen die Schwellenwerte in der gleichen Größenordnung, so dürfte die Wirkung auf Absorption der *Primär*strahlung im *Cytoplasma* zurückzuführen sein; unterscheiden sich die Schwellenwerte dagegen erheblich, so könnte die Wirkung durch Absorption des *gebeugten* und *gestreuten* Lichtes im *Chloroplasten* zustande kommen. Praktisch gingen wir so vor, daß wir nicht die eigentlichen Schwellen bestimmten, sondern Dosis-Effekt-Kurven aufstellten, die wir miteinander vergleichen konnten. Wir belichteten in beiden Stellungen 4, 15 und 60 sec; als Kontrolle ließen wir außerdem noch Belichtungen unmittelbar neben der Zelle mitlaufen.

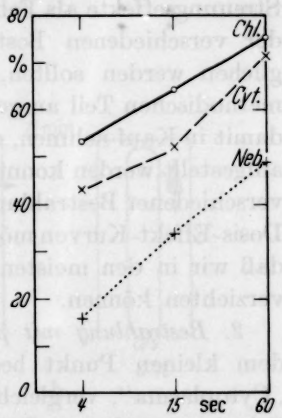

Abb. 4. Induktion der Chloroplastenbewegung durch Bestrahlung mit dem mittleren Punkt ($\varnothing$ 6 μ), unpolarisiert. Bestrahlungen gemäß Abb. 3 b. Abszisse: Bestrahlungszeit; Ordinate: Prozentsatz von Zellen, in denen der Chloroplast sich auf der belichteten Seite gedreht hat. Zusammenfassung von 22 Versuchen. Jeder Kurvenpunkt repräsentiert 60—150 Zellen

In Anbetracht der großen Zahl zu vergleichender Belichtungen konnten wir ein statistisch brauchbares Ergebnis hier nur erhalten, indem wir die Versuche von vielen Tagen zusammenfaßten. Das ist ein recht angreifbares Verfahren und kann daher nur den Charakter eines Vorversuches haben. Trotzdem ergibt die Auswertung Wirkungskurven, die den früher gewonnenen Resultaten über die Dosis-Abhängigkeit der Reaktion (Haupt 1959) weitgehend entsprechen (Abb. 4). Eine wirkliche

Entscheidung konnten diese Versuche allerdings nicht bringen, die Kurve für die Stellung „Cytoplasma" liegt zwischen den oben theoretisch geforderten extremen Möglichkeiten. Darüber hinaus aber zeigte sich, daß auch eine Belichtung *neben* der Zelle noch zu einem ansehnlichen Prozentsatz von Reaktionen führt; bei der Beurteilung der Ergebnisse hat also größte Vorsicht zu walten.

Wir faßten nun die Bedingungen schärfer und zwar in dreifacher Hinsicht: 1. verwendeten wir im folgenden nur noch linear polarisiertes Licht; 2. arbeiteten wir nun mit dem kleinen Punkt, der eine noch exaktere Lokalisierung der Bestrahlung ermöglicht und damit auch Streuungseffekte als Fehlerquelle verringert; 3. reduzierten wir die Zahl der verschiedenen Bestrahlungen, die unmittelbar miteinander verglichen werden sollten, auf zwei bis höchstens vier, wie bereits im methodischen Teil ausgeführt wurde (s. S. 520). Allerdings mußten wir damit in Kauf nehmen, daß in Zukunft keine Dosis-Effekt-Kurven mehr aufgestellt werden konnten, so daß Aussagen über Wirkungsverhältnisse verschiedener Bestrahlungsarten nur auf der Basis der früher ermittelten Dosis-Effekt-Kurven möglich sind. Im folgenden wird sich jedoch zeigen, daß wir in den meisten Fällen auf quantitative Wirkungsverhältnisse verzichten können.

2. Bestrahlung mit polarisiertem Licht, orientierende Versuche. Mit dem kleinen Punkt bestrahlten wir in Stellung „Chloroplast" und „Cytoplasma", vergleichend mit quer und längs zur Zelle orientierter Schwingungsebene. Die Ergebnisse stimmten in den Versuchen von drei aufeinanderfolgenden Tagen so gut überein, daß sie in Abb. 5a zu gemeinsamen Mittelwerten zusammengefaßt werden konnten. Qualitativ zeigen uns diese Versuche dreierlei: a) Im Gegensatz zur Totalbelichtung erhalten wir eine Induktion der Chloroplastenbewegung auch mit polarisiertem Licht, das *parallel* zur Zelle schwingt, sofern wir den *Chloroplasten* bestrahlen. Die Wirksamkeit scheint in der gleichen Größenordnung zu liegen wie bei querschwingender Strahlung; der Frage nach dem Wirkungsverhältnis soll im folgenden Abschnitt noch nachgegangen werden. b) Eine Belichtung mit querschwingender Strahlung neben dem Chloroplasten (Stellung „Cytoplasma") wirkt in gleicher Weise induzierend wie eine Bestrahlung des Chloroplasten selbst. Daß der Reaktionswert hier sogar höher liegt als bei Bestrahlung des Chloroplasten, muß als zufälliges Ergebnis gewertet werden; nach der Formel für Ereignisstatistik wären bei dem gegebenen Versuchsumfang Differenzen zwischen Prozentwerten erst ab etwa 25% statistisch gesichert. Immerhin können wir aus den Ergebnissen einer Vielzahl ähnlicher Versuche schließen, daß eine Induktion durch Bestrahlung des Cytoplasmas höchstens viermal so viel Energie erfordert wie die des Chloroplasten, daß das Wirkungsverhältnis also $\geqq 1:4$ ist. Jedenfalls besteht

kein *grundsätzlicher* Unterschied in der Wirkung zwischen beiden Punktstellungen bei querschwingender Strahlung. c) Bei längsschwingender Strahlung dagegen ist die Stellung des Punktes von großer Bedeutung; falls überhaupt eine Wirkung bei Bestrahlung des Cytoplasmas vorhanden ist, muß sie wesentlich geringer sein als bei Bestrahlung des

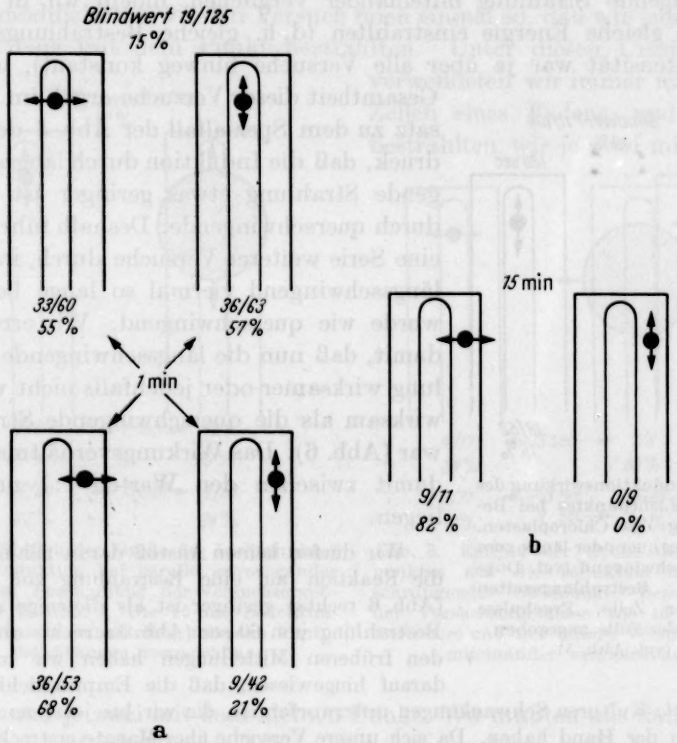

Abb. 5a u. b. Schematische Darstellung verschiedener Partialbelichtungen mit dem kleinen Punkt (vgl. Abb. 3a). Der Doppelpfeil gibt die Schwingungsrichtung des polarisierten Lichtes an. Die Ergebnisse sind in absoluten Werten angegeben (Nenner: Anzahl bestrahlter Zellen; Zähler: Anzahl Zellen, die reagiert haben), und darunter in Prozent. a Belichtung 1 min, Versuche von 3 Tagen zusammengefaßt. b Belichtung 15 min, nicht unmittelbar vergleichbar mit a

Chloroplasten. Doch konnte eine Reaktion, die eindeutig über dem Blindwert liegt, nicht erhalten werden, selbst dann nicht, wenn die Belichtungszeit pro Zelle auf 15 min ausgedehnt wurde (Abb. 5b)[1].

In diesen Versuchen ließen wir zuweilen auch wieder Kontrollen mitlaufen, in denen der Punkt neben die Zelle gesetzt wurde. Im Gegensatz zu den im ersten Abschnitt besprochenen Versuchen mit dem mittleren Punkt traten hier keine Reaktionen auf, die über den Blindwert hinausgingen.

[1] Über die Modifizierung der Methode bei so langen Belichtungszeiten vgl. S. 525.

3. Das Wirkungsverhältnis zwischen Belichtung mit quer- und längsschwingender Strahlung. Da wir nicht die Möglichkeit hatten, vergleichende Dosis-Effekt-Kurven aufzunehmen, die der Kritik standhalten, versuchten wir auf anderem Wege zum Ziel zu kommen. In zahlreichen Versuchen hatten wir die Induktionen durch längs- und querschwingende Strahlung miteinander verglichen, indem wir in beiden Fällen gleiche Energie einstrahlten (d. h. gleiche Bestrahlungszeiten; die Intensität war ja über alle Versuche hinweg konstant), und die Gesamtheit dieser Versuche ergab im Gegensatz zu dem Spezialfall der Abb. 5 den Eindruck, daß die Induktion durch längsschwingende Strahlung etwas geringer ist als die durch querschwingende. Deshalb führten wir eine Serie weiterer Versuche durch, in denen längsschwingend viermal so lange bestrahlt wurde wie querschwingend. Wir erreichten damit, daß nun die längsschwingende Strahlung wirksamer oder jedenfalls nicht weniger wirksam als die querschwingende Strahlung war (Abb. 6). Das Wirkungsverhältnis dürfte damit zwischen den Werten 1:1 und 4:1 liegen.

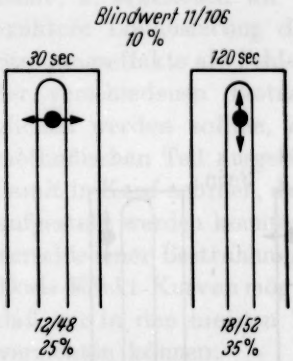

Abb. 6. Induktionswirkung des kleinen Lichtpunktes bei Bestrahlung des Chloroplasten. Strahlung quer oder längs zum Faden schwingend (vgl. Doppelpfeil). Bestrahlungszeiten über der Zelle, Ergebnisse unter der Zelle angegeben (vgl. Abb. 5)

Wir dürfen keinen Anstoß daran nehmen, daß die Reaktion auf eine Bestrahlung von 120 sec (Abb. 6 rechts) geringer ist als diejenige auf eine Bestrahlung von 60 sec (Abb. 5a rechts oben). In den früheren Mitteilungen haben wir mehrfach darauf hingewiesen, daß die Empfindlichkeit der *Mougeotia*-Kulturen Schwankungen unterworfen ist, die wir bis jetzt noch nicht völlig in der Hand haben. Da sich unsere Versuche über Monate erstreckten, ist es nicht verwunderlich, wenn wir im einen Fall empfindlicheres Material hatten (Abb. 5a) als im anderen (Abb. 6). Das gilt in ähnlicher Weise auch für den Vergleich der Versuche in Abb. 8 oben und unten. Wesentlich ist nur, daß die *unmittelbar* zu vergleichenden Reaktionswerte aus dem gleichen Pflanzenmaterial einheitlicher Reaktionsfähigkeit gewonnen wurden.

4. Der Vergleich der Reaktionen bei verschiedener Größe des Lichtpunktes. Wenn einerseits Bestrahlung eines zentralen Bereiches der Zelle (Stellung „Chloroplast") mit längsschwingendem Licht zur Reaktion führt, andererseits aber Totalbelichtung der Zelle mit der gleichen Strahlung wirkungslos ist oder sogar eine gegebene Induktion herabsetzt (HAUPT 1960), so ist bereits daraus zu entnehmen, daß Absorption in einem mehr seitlichen Bereich der Zelle (Stellung „Cytoplasma") eine antagonistische Wirkung ausüben muß. Dies läßt sich auch mit Partialbelichtungen nachweisen, wenn wir die Wirksamkeit verschieden großer Lichtpunkte vergleichen. In Abb. 7 sind derartige Versuche dargestellt. Auch hier müssen wir wieder berücksichtigen, daß die Zahl der Einzel-

zellen zu klein ist, um *quantitative* Angaben zu machen, aber wir können mit aller Sicherheit aussagen, daß eine Vergrößerung des Punktes auf die 16- oder gar 64fache Fläche (bzw. auf den 4—8fachen Durchmesser) bei parallelschwingender Strahlung jedenfalls *keine wesentliche Erhöhung* der Wirksamkeit mit sich bringt (Abb. 7a). Um diese Aussage zu präzisieren, modifizierten wir den Versuch noch einmal so, daß wir jede Zelle 15 min lang mit dem Punkt bestrahlten. Unter diesen Umständen verwendeten wir immer nur vier Zellen eines Fadens, und zwar bestrahlten wir je zwei mit dem großen und je zwei mit dem kleinen Punkt. Wir mußten uns dabei notgedrungen mit sehr kleinen Zahlen begnügen, doch waren die Ergebnisse eindeutig (vgl. Abb. 7b): Der große Lichtpunkt hat *weniger* induzierende Wirkung als der kleine. Das steht im krassen Gegensatz zu entsprechenden Versuchen mit querschwingender Strahlung, die in Abb. 8 dargestellt sind. Ohne auf quantitative Beziehungen Wert zu legen, sollte hier lediglich gezeigt werden, daß eine Vergrößerung des Lichtpunktes in diesem Falle einen erheblichen Wirkungszuwachs bedingt und zwar selbst dann noch, wenn mit dem kleinen Punkt viermal so lange bestrahlt wird wie mit dem großen. Das war zu erwarten, bestätigt aber zugleich, daß im Falle längsorientierter Schwingungsebene eine antagonistische Wirkung der im großen Punkt zusätzlich gebotenen Strahlung vorliegen muß.

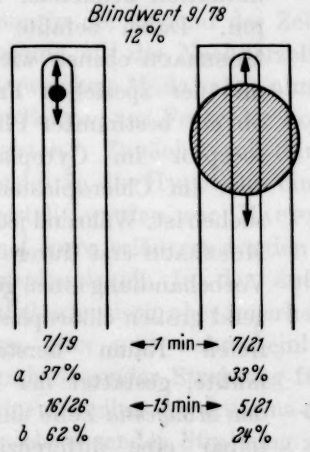

Abb. 7. Einfluß der Größe des Lichtpunktes auf die Induktion bei parallel schwingender Strahlung. Bezeichnung der Versuchsergebnisse wie in Abb. 5. Die 15 min-Belichtungen sind nicht unmittelbar mit den 1 min-Belichtungen vergleichbar

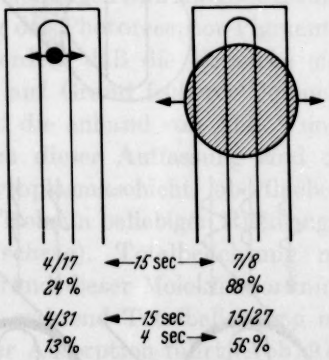

Abb. 8. Einfluß der Größe des Lichtpunktes auf die Induktion bei quer schwingender Strahlung. Bezeichnung der Versuchsergebnisse wie in Abb. 5. Der obere und der untere Versuch nicht miteinander vergleichbar

Diskussion

Untersuchungen über Lokalisierung oder Orientierung von Photoreceptoren innerhalb einer Zelle mit Hilfe partieller Beleuchtung derselben wurden schon mehrfach mit Erfolg durchgeführt. Als Beispiel

sei an die Versuche von BUDER (1920), BANBURY (1952), GETTKANDT (1954) sowie COHEN und DELBRÜCK (1959) über Phototropismus und Lichtwachstumsreaktion erinnert oder an die Untersuchungen von MOSEBACH (1943) und JAFFE et al. (1960) bei der Polaritätsinduktion keimender Sporen. Dabei befaßte sich MOSEBACH ebenso wie wir mit der speziellen Frage, ob ein bestimmter Photoreceptor im Cytoplasma oder im Chloroplasten zu suchen ist. Während jedoch MOSEBACH erst durch eine Vorbehandlung einen genügend großen chloroplastenfreien Raum herstellen mußte, gestattet der Bau der *Mougeotia*-Zelle unmittelbar eine differenzierte Lokalisierung des Lichtpunktes. Da wir zudem mit kurzen Belichtungszeiten auskamen, konnten wir die Versuche zahlenmäßig auf eine etwas breitere Basis stellen und damit Einwände, die aus Streuungs- und Beugungserscheinungen des Lichtes abgeleitet werden könnten, weitgehend entkräften.

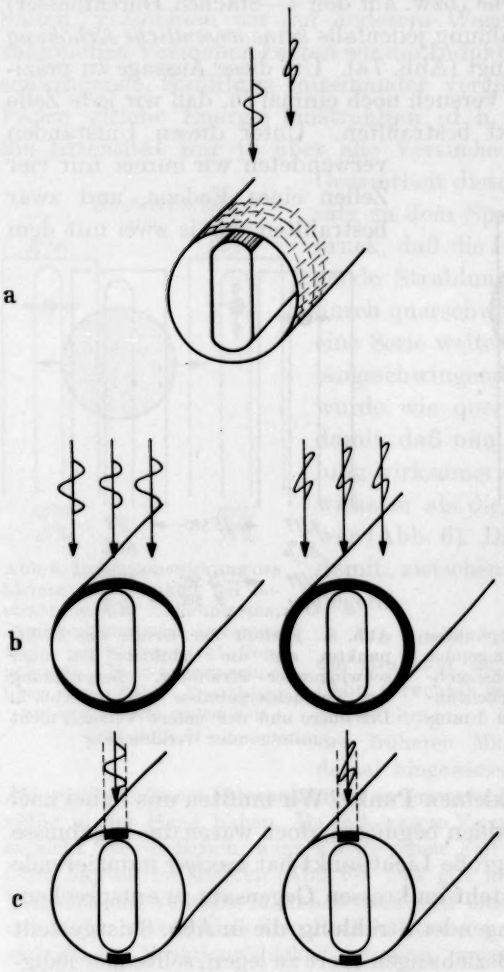

Abb. 9a—c. Schematische Darstellung der Absorptionsverhältnisse in einer *Mougeotia*-Zelle bei verschiedenen Bestrahlungen. a Zelle mit längs- und querangeordneten Photoreceptoren, Bestrahlung von oben mit längs- oder querschwingendem Licht. b Totalbelichtung von oben. Die Stärke des schwarzen Ringes gibt das relative Ausmaß der Absorption entlang dem Umfang des Querschnittes an. Erzeugung eines Absorptionsgradienten durch querschwingendes Licht (links), kein Gradient mit längsschwingendem (rechts). c Punktbestrahlung von oben in der Medianen, Absorption wie bei b dargestellt. Erzeugung eines Absorptionsgradienten in quer- und längsschwingendem Licht. In allen Fällen wurden Absorptionsverluste beim Durchgang durch den Chloroplasten sowie Lichtbrechungen nicht berücksichtigt

Schon SENN (1908) hatte gefunden, daß bei partieller Bestrahlung einer *Mougeotia*-Zelle nur im bestrahlten Teil der Zelle eine Chloroplastendrehung induziert wird, was zwangsläufig zu Torsionen des Chloroplasten führen muß.

Diese longitudinale Autonomie konnten wir in den vorliegenden Versuchen voll bestätigen. Von einer „Reizleitung" war nichts zu bemerken; wenn in unseren Versuchen mit sehr kleinen Lichtpunkten der reagierende Abschnitt des Chloroplasten größer war als die longitudinale Erstreckung des Lichtpunktes, so hat das zweifellos rein mechanische Gründe, da der Chloroplast nicht beliebig deformierbar ist. Sofern die Zelle nicht sehr lang war, zeigte sich relativ häufig der Fall, daß der Chloroplast sich bis zur Zellmitte gedreht hatte, daß also die Torsion in der Gegend des Zellkerns erfolgt war. Ein Übergreifen der Bewegung auf die Nachbarzelle wurde niemals beobachtet.

In welchem Maße haben nun die Untersuchungen ihre Aufgabe erfüllt, einen Beitrag zur Frage der Lokalisierung des Photoreceptor-Pigmentes zu leisten? Zunächst soll dargestellt werden, daß die Versuche sich zwanglos in die Hypothese einfügen, die auf Grund früherer Versuche aufgestellt worden war (Haupt 1960) und die anhand von Abb. 9 noch einmal kurz erläutert werden soll. Nach dieser Auffassung sind die Pigmentmoleküle in der äußersten Cytoplasmaschicht oberflächenparallel orientiert, aber innerhalb dieser Fläche in beliebigen Richtungen (längs, quer und wahrscheinlich auch schräg). Totalbelichtung mit querschwingender Strahlung führt auf Grund dieser Molekülanordnung zu einem steilen Absorptions-*Gradienten*, während Totalbelichtung mit längsschwingender Strahlung zu *allseitiger* Absorption führt (Abb. 9b); der durch letztere erzeugte höchstens sehr schwache Gradient reicht nicht nur nicht aus, um überhaupt eine Bewegung auszulösen, sondern schwächt sogar einen bestehenden Gradienten noch ab. Zu erwarten wäre nach dieser Hypothese, daß Partialbelichtung in der Zellmedianen allein in gleicher Weise bei längs- und querschwingender Strahlung zur Induktion führen müßte (Abb. 9c); diese Erwartung hat sich erfüllt (Abb. 5 und 6).

Es erscheint nun recht verlockend, aus dem Wirkungsverhältnis längs- und querschwingender Partialbelichtung auf den relativen Anteil längs- und quergelagerter Photoreceptoren zu schließen. Abgesehen davon, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungen quantitative Angaben nur mit einem sehr großen Aufwand möglich sind, brachten die Versuche, in denen wenigstens Anhaltspunkte für ein solches Wirkungsverhältnis gesucht wurden, so uneinheitliche Ergebnisse, daß wir diese Frage zurückstellen müssen, bis die Ursache dieser möglicherweise systematischen Schwankungen geklärt ist. Gewisse Ansatzpunkte zur Klärung scheinen vorzuliegen. Bis dahin müssen wir uns mit dem Ergebnis „quer zu längs = 1 : 1 bis 4 : 1" begnügen.

Die zweite Forderung unserer Hypothese besteht darin, daß es für die Induktion unwesentlich ist, ob der Chloroplast selbst vom Licht getroffen wird oder nicht. Da wir noch keine Bedingung in der Hand

haben, um gesetzmäßig Zellen zu erhalten, deren Chloroplasten kürzer als die Zellen sind, mußten wir den Lichtpunkt neben den Chloroplasten setzen. Da der Chloroplast in Profilstellung etwa ein Drittel der Zellbreite einnimmt (vgl. Abb. 3), bleibt auch bei Verwendung des kleinsten Punktes nicht mehr allzu viel Raum für eine reine Cytoplasma-Belichtung.

Eine Voraussage über das Wirkungsverhältnis zwischen Chloroplasten- und Cytoplasma-Belichtung läßt sich nicht machen, da hier mehrere modifizierende Faktoren als Unbekannte in die Rechnung eingehen: 1. nimmt die Absorption nach den Seiten hin ab und 2. wird der Gradient bei seitlicher Bestrahlung der Zelle unsymmetrisch. Das würde zu einer geringeren Wirkung in Stellung Cytoplasma führen müssen. Dem steht gegenüber, daß 3. der auf den Chloroplasten orientierte Lichtpunkt in diesem zu sehr starker Absorption führt, so daß in diesem Falle die Schattenseite der Zelle viel weniger Licht erhält als dies dem Schema (Abb. 9c) entspricht. Messungen am Mikro-Spektrophotometer ergaben, daß das von uns verwendete Rotlicht zu etwa 70% absorbiert wird, daß also auf der Schattenseite nur noch 30% des einfallenden Lichtes zur Verfügung stehen. Beim Durchgang durch das Cytoplasma neben dem Chloroplasten gehen dagegen nur etwa 10% der Strahlung durch Absorption und Streuung verloren.

Aus diesem Grunde können wir uns mit der Feststellung begnügen, daß die Induktionswirkungen bei querschwingendem Licht in beiden Stellungen des Lichtpunktes in der gleichen Größenordnung liegen. Damit dürfte aber auch schon der Einwand sehr an Berechtigung verlieren, daß es sich bei der Bestrahlung des Cytoplasmas um eine Wirkung von Streulicht auf den Chloroplasten handelt. Ein weiteres wichtiges Argument gegen diesen Einwand liefern aber auch die Versuche mit längsschwingendem Licht; auch dieses müßte ja im Cytoplasma (oder an der Zellwand) gestreut werden und im Chloroplasten zur Absorption führen — auf Grund der Streuungsgesetze müßte in diesem Fall der Chloroplast sogar von noch stärkerer Streuung getroffen werden als bei querschwingendem Licht[1]. Doch blieb eine Bestrahlung des Cytoplasmas mit längsschwingendem Licht ohne wesentliche Wirkung (vgl. Abb. 5).

[1] Nehmen wir an, daß der gesamte Anteil von 10%, um den die Intensität beim Durchgang durch das Cytoplasma vermindert wird (s. oben), Streulicht darstellt, so kann davon höchstens die Hälfte auf den Chloroplasten fallen, da ja mit der gleichen Wahrscheinlichkeit Streuung vom Chloroplasten weg wie zu ihm hin erfolgt. So könnten höchstens 5% des einfallenden Lichtes den Chloroplasten als Streulicht treffen. Dieser Wert ist aber sicher noch zu hoch, da in den 10% auch ein Absorptionsanteil enthalten sein muß. Außerdem erfolgt die Streuung bei *querschwingendem* Licht bevorzugt *parallel* zur Chloroplastenfläche, der Maximalwert von 5% dürfte also nur bei *längsschwingendem* Licht annähernd erreicht werden können.

Müßte aber nicht auch bei Zutreffen unserer Hypothese diese Cytoplasmabestrahlung mit längsschwingendem Licht zum gleichen Absorptionsgradienten und damit zur gleichen Reaktion führen wie bei Verwendung von querschwingendem? Das ist nicht ganz richtig; da die Absorption nach der Seite hin bei querschwingendem Licht mit dem Quadrat des Cosinus des Einfallswinkels abnimmt, während längsschwingende Strahlung überall gleich absorbiert wird, ist im ersten Fall der Schwerpunkt der Absorption noch mehr zur Medianen verschoben, so daß hier der Gradient lange nicht so unsymmetrisch wird wie bei längsschwingender Strahlung.

Mit dem Nachweis einer starken induzierenden Wirkung der Cytoplasma-Bestrahlung sind wir aber bereits über die Forderung hinausgegangen, daß die Ergebnisse mit der Hypothese vereinbar sein sollen: wir haben hier jetzt ein beweiskräftiges Argument dafür, daß die Photoreceptoren im Cytoplasma lokalisiert sind. In gleiche Richtung weisen die Bestrahlungen mit den verschieden großen Punkten. Bei querschwingender Strahlung wirkt erwartungsgemäß der große Punkt viel stärker als der kleine; das Verhältnis der Durchmesser beträgt 8:1, entsprechend ist eine achtmal größere Längsausdehnung der Zellmedianen bestrahlt worden. Das gleiche müßte für parallelschwingende Strahlung gelten, wenn die Zelle nur in der Medianen (insbesondere nur im Chloroplasten) wirksam absorbieren könnte. Nun wird aber im Gegenteil durch Vergrößerung des Punktes die Wirkung nicht verstärkt, sondern deutlich vermindert; wir müssen also mit einer antagonistisch wirkenden Absorption in den zusätzlich bestrahlten Cytoplasmapartien rechnen. Wenn aber *anatagonistisch* wirkende Hellrotstrahlung im Cytoplasma absorbiert wird, so ist kaum daran zu zweifeln, daß das gleiche für *induzierende* Strahlung gilt.

Wir glauben mit diesen Versuchen nachgewiesen zu haben, daß eine Absorption von Rotlicht durch das Phytochromsystem im Cytoplasma stattfindet. Streng genommen haben wir damit allerdings nicht die Alternative „Cytoplasma *oder* Chloroplast" endgültig entschieden; denn es wäre immerhin theoretisch denkbar (wenngleich wohl wenig wahrscheinlich), daß sich das Phytochrom *sowohl* im Cytoplasma *als auch* im Chloroplasten befindet. Außerdem aber sagen unsere Versuche auch nichts darüber aus, ob außer in der wandständigen Cytoplasmaschicht auch noch Phytochrommoleküle in der den Chloroplasten umgebenden Cytoplasmaschicht anzunehmen sind. Eine Klärung dieser Fragen dürfte allerdings erhebliche Schwierigkeiten bereiten.

Ebenfalls können wir zu der Frage, in welchen cytoplasmatischen Bestandteilen das Phytochrom lokalisiert ist, mit unseren Versuchen keinen Beitrag leisten. Gordon und Surrey (1960) schließen aus ihren Untersuchungen, daß die Mitochondrien als Sitz des Phytochroms in Frage kommen; das würde zu der Auffassung passen, daß die durch Hellrotabsorption ausgelöste Pigmentumwandlung zu einer fundamentalen Umsteuerung eines Stoffwechselbereiches führt (Mohr 1960).

Summary

Mougeotia cells with chloroplasts oriented in profile have been irradiated with small spots of monochromatic red polarized light in order to induce chloroplast movement.

In these experiments, four factors have been varied: 1. the orientation of the vibration plane of the light in relation to the cell axis, 2. the localization of the spot, i. e. irradiation of the chloroplast or the cytoplasm, 3. the spot size, and 4. the duration of the irradiation.

As a result of our experiments, we conclude that the photoreceptor molecules responsible for the light-induced chloroplast movement are localized in the cytoplasm.

As the photoreceptor of this reaction is the well known phytochrome-system, we may assume that also in other plants the phytochrome is localized in the cytoplasm rather than in the chloroplast.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für großzügige Sachbeihilfen sowie Frau Dr. R. Gerisch für ihre unermüdliche Mitarbeit bei den langwierigen Versuchen.

Literatur

Banbury, G. H.: Physiological studies in the mucorales. J. exp. Bot. **3**, 77—94 (1952).

Buder, J.: Neue phototropische Fundamentalversuche. Ber. dtsch. Bot. Ges. **38**, 10—14 (1920).

Cohen, R., and M. Delbrück: Photoreactions in *Phycomyces*. Growth and tropic responses to the stimulation of narrow test areas. J. gen. Physiol. **42**, 677—695 (1959).

Gettkandt, G.: Zur Kenntnis des Phototropismus der Keimmycelien einiger parasitischer Pilze. Wiss. Z. Univ. Halle, math.-nat. Reihe **3**, 691—710 (1954).

Gössel, I.: Über das Aktionsspektrum der Phototaxis chlorophyllfreier Euglenen und über die Absorption des Augenflecks. Arch. Mikrobiol. **27**, 288—305 (1957).

Gordon, S. A., and K. Surrey: Red and far-red action on oxydative phosphorylation. Radiat. Res. **12**, 325—329 (1960).

Haupt, W.: Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*. I. Über den quantitativen und qualitativen Lichtbedarf der Schwachlichtbewegung. Planta (Berl.) **53**, 484—501 (1959).

— Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*. II. Die Induktion der Schwachlichtbewegung durch linear polarisiertes Licht. Planta (Berl.) **55**, 465—479 (1960).

Jaffe, L., H. Etzold and S. McKinley: Orientation of cell growth by polarized radiation. Proc. III. Internat. Congr. Photobiol., Copenhagen 1960.

Mohr, H.: Photomorphogenetische Reaktionssysteme in Pflanzen. 1. Teil: Das Reversible Hellrot-Dunkelrot-Reaktionssystem und das Blau-Dunkelrot- Reaktionssystem. Ergebn. Biol. **22**, 67—107 (1960).

Mosebach, G.: Über die Polarisierung der *Equisetum*spore durch das Licht. Planta (Berl.) **33**, 340—387 (1943).

Senn, G.: Die Gestalts- und Lageveränderungen der Pflanzen-Chromatophoren. Leipzig: Wilhelm Engelmann 1908.

Doz. Dr. W. Haupt,
(14b) Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstr. 5

Planta 57, 531—542 (1961)

Aus dem Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich

TRANSPORT UND VERTEILUNG VON MARKIERTEN ASSIMILATEN. I

Von

H. Wanner und R. Bachofen

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 15. August 1961)

Einleitung

Die Verwendung von ^{14}C zur Markierung von Assimilaten hat in den letzten Jahren große Fortschritte zur Kenntnis ihrer Verteilung auf die verschiedenen Organe des Cormophytenkörpers gebracht. Die wesentliche Aufgabe dieser Untersuchungen ist die Feststellung der Richtung und die genaue Lokalisierung der Assimilatströme, ausgehend von den verschiedenen Stellungen der Blattfolge. Ein anderes Problem betrifft die Kräfte, welche die Assimilatströme mit bestimmter Geschwindigkeit vom Produktionsort zum Verbrauchsort treiben. Während wir über die Zusammensetzung, die Richtung und die Geschwindigkeit der Verteilung der Assimilate bei einigen Versuchspflanzen heute recht gut unterrichtet sind, fehlen für das Verständnis des Transportmechanismus noch wesentliche Grundlagen.

Die vorliegende Mitteilung berichtet über Ergebnisse von Untersuchungen, welche einen Beitrag zur Aufklärung der Herkunft des Assimilatstromes in die Früchte von *Phaseolus vulgaris* liefern sollen. Hierüber sind erst wenige Untersuchungen veröffentlicht worden. Belikov (1957) glaubte bei der Soja nachgewiesen zu haben, daß nur das Tragblatt zur Assimilatversorgung der Hülse beitrage, die übrigen Blätter dagegen nicht. Ähnliche Resultate erzielten Linck und Swanson (1960) bei *Pisum sativum* bezüglich des Transportes von ^{32}P aus Blättern in Früchte. Für ^{32}P ist schon verschiedentlich nachgewiesen worden, daß der Abtransport aus den Blättern eng mit der Assimilatwanderung verknüpft ist.

Es ist offensichtlich, daß diese Beobachtungen schon aus morphologischen Gründen nicht verallgemeinert werden dürfen. Die Methode der systematischen Entblätterung, die früher angewendet wurde, um die Herkunft der Assimilate in Früchten zu bestimmen, kann keine Ergebnisse liefern, welche die *normalen* Verhältnisse widerspiegeln (s. Swanson 1959). Bei vielen Früchten komplizieren sich die Verhältnisse noch durch die eigene Assimilation. Auch im Hinblick auf die praktische Bedeutung genauer Kenntnisse der Herkunft des Assimilat-

stromes zu den Früchten, z. B. in bezug auf den Schnitt der Weinrebe (s. z. B. GAVRILOV 1938), ist eine ausgedehnte und kritische Anwendung markierter Substanzen wünschenswert. Wir haben unsere Versuche zunächst an *Phaseolus vulgaris* ausgeführt und die ^{32}P- wie die ^{14}C-Assimilatwanderung untersucht. Experimente an weiteren Pflanzen sind im Gange.

Über den *Mechanismus* des Transportes zwischen den vegetativen Teilen der Pflanze bestehen klarere Vorstellungen als über den in Früchten. Die einzige Hypothese, die auch diese Teile des Assimilattransportes umfaßt und alle Erscheinungen unter einem einheitlichen Gesichtspunkt zu erklären versucht, ist die Massenstrom-Hypothese. MÜNCH (1930) erläutert seine diesbezüglichen Auffassungen für verschiedene Fruchttypen und führt auch einige eigene Versuche an, die aber nur Auskunft über die Transportbahn geben, jedoch nicht für den Transport-*Mechanismus* beweisend sind.

Bei unseren Experimenten führten Versuche über die $^{14}CO_2$-Assimilation der Bohnenfrüchte zu Resultaten, die eine Stellungnahme zur Massenstrom-Hypothese gestatten — wenigstens in der von MÜNCH für Früchte angenommenen Form.

Methoden

Pflanzenmaterial. Für unsere Fütterungsexperimente benützten wir *Phaseolus vulgaris* var. *communis* („Kätheli") und var. *nana* („Granda"). Die Pflanzen wurden in guter Humuserde im Gewächshaus gezogen und im Alter von 42 bis 48 Tagen zu den Versuchen verwendet. Zu dieser Zeit sind über den Primärblättern 3—4 dreiteilige Fiederblätter voll entwickelt; ferner tragen die Pflanzen in den oberen Blattachseln Früchte in verschiedenen Entwicklungsstadien.

Fütterung mit ^{32}P. Radioaktiver Phosphor wurde den Blättern in Form einer Na_2HPO_4-Lösung zugeführt. Durch einen nach der Basis des Blattes offenen U-Schnitt in der Mitte der Spreite des mittleren Fiederblättchens wurde eine Zunge der Mittelrippe gebildet, welche in die Lösung tauchte. In jedem Versuch erhielt das Blatt 0,1 ml mit einer Aktivität von etwa 100 μC.

KOONTZ und BIDDULPH (1957) konnten zeigen, daß diese Applikationsmethode ungefähr gleich wirksam ist wie Vakuum-Infiltration oder Besprühen des Blattes.

An Früchte gaben wir ^{32}P in ähnlicher Weise zu: die Spitze von etwa 1 cm Länge wurde abgeschnitten und die Früchte mit der Schnittstelle in die Lösung getaucht. Der Schnitt erfolgte soweit apikal, daß der Hohlraum der Hülse nicht geöffnet wurde.

Fütterung von Blättern mit $^{14}CO_2$. Die Blätter erhielten $^{14}CO_2$ in flachen Perspex-Küvetten, die in einen Kreislauf eingeschaltet waren, in dem die Luft mittels einer Membranpumpe zirkulierte. Der Kreislauf enthielt ein $^{14}CO_2$-Entwicklungsgefäß, ferner einen „Nebenschluß" mit einer Waschflasche (10 n NaOH), um das am Schluß der Experimentszeit verbleibende Kohlendioxyd zu absorbieren. Der $^{14}CO_2$-Gehalt der zirkulierenden Luft konnte fortlaufend mittels einer GM-Zähleinrichtung verfolgt werden.

Die Pflanzen befanden sich während der Versuche und bis zur Ernte im Gewächshaus. Bei einzelnen Fütterungsversuchen wurden die Blätter oder die Früchte zusätzlich mit Fluorescenzröhren beleuchtet.

Messung der Radioaktivität. Nach Abschluß des Versuches wurden die Pflanzen in Blattspreite, Blattstiele, Stengel und Früchte zerlegt und bei 80° C getrocknet. Zur Messung der ^{32}P-Aktivität kamen die Proben in Säcke aus dünnem Cellophan. Für die Ermittlung des ^{14}C-Gehaltes wurden die Proben pulverisiert und die Aktivität der Trockensubstanz in „unendlich dicker" Schicht gemessen. Bei Proben, deren Substanzmenge nicht dazu ausreichte, wurde eine entsprechende Korrektur für die Selbstabsorption angebracht.

Für die Fütterung von Früchten wurden besondere Küvetten verwendet, die der Fruchtform angepaßt waren.

Für alle Aktivitätsmessungen verwendeten wir einen GM-Zähler (Frieseke und Hoepfner) mit Methandurchfluß-Zählrohr.

Unsere Untersuchungen wurden von der Atomforschungskommission des Schweizerischen Nationalfonds unterstützt; wir möchten für diese Hilfe bestens danken.

Versuchsergebnisse

1. Verteilung radioaktiver Substanzen bei Fütterung der Blätter

Fütterung von Blättern mit ^{32}P. In einer ersten Versuchsreihe wurden 10 Pflanzen über Blätter verschiedener Stellung mit ^{32}P gefüttert. Die Pflanzen wurden 24 Std lang nach der ^{32}P-Zugabe belichtet und darauf geerntet. In Parallelversuchen zeigte es sich, daß Verdunkelung der gefütterten Blätter innerhalb der 24 Std Versuchszeit keinen Einfluß auf die Verteilungsart des Isotops auf die verschiedenen Sproßteile hatte.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 und Abb. 1a zusammengefaßt. Es zeigt sich, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen im Mittel nicht über 20% der Gesamtaktivität des Sprosses in den nicht gefütterten Pflanzenteilen zu finden ist. Diese relative stärkste Abgabe war dann zu beobachten, wenn die Primärblätter gefüttert wurden. Je jünger die gefütterten Blätter sind, um so geringer ist der Phosphatexport aus diesen Blättern. Diese

Tabelle 1. *Prozentuale Verteilung von ^{32}P in der Pflanze nach 24 Std bei Blattfütterung*

	Gefüttertes Blatt															
	Primärblatt				1. oder 2. Fiederblatt					3. oder 4. Fiederblatt						
	Versuch Nr.				Versuch Nr.					Versuch Nr.						
	5	6	11	Mittel	1	2	4	12	Mittel	3	7	8	Mittel			
Im gefütterten Blatt . . .	70,6	92,3	77,9	80,3	89,7	88,3	84,6	76,9	84,9	97,9	93,2	94,7	95,3			
In jüngeren Organen . . .	7,1	3,3	6,2	5,5	3,8	2,2	8,5	9,2	6,2	0	0,4	0	0,1			
In älteren Organen	16,3	3,4	3,7	7,8	1,9	0,5	3,3	3,9	2,1	0,6	0	0,8	0,5			
In Früchten	6,0	1,0	12,2	6,4	4,6	9,0	3,6	10,0	6,8	1,5	6,4	4,5	4,1			

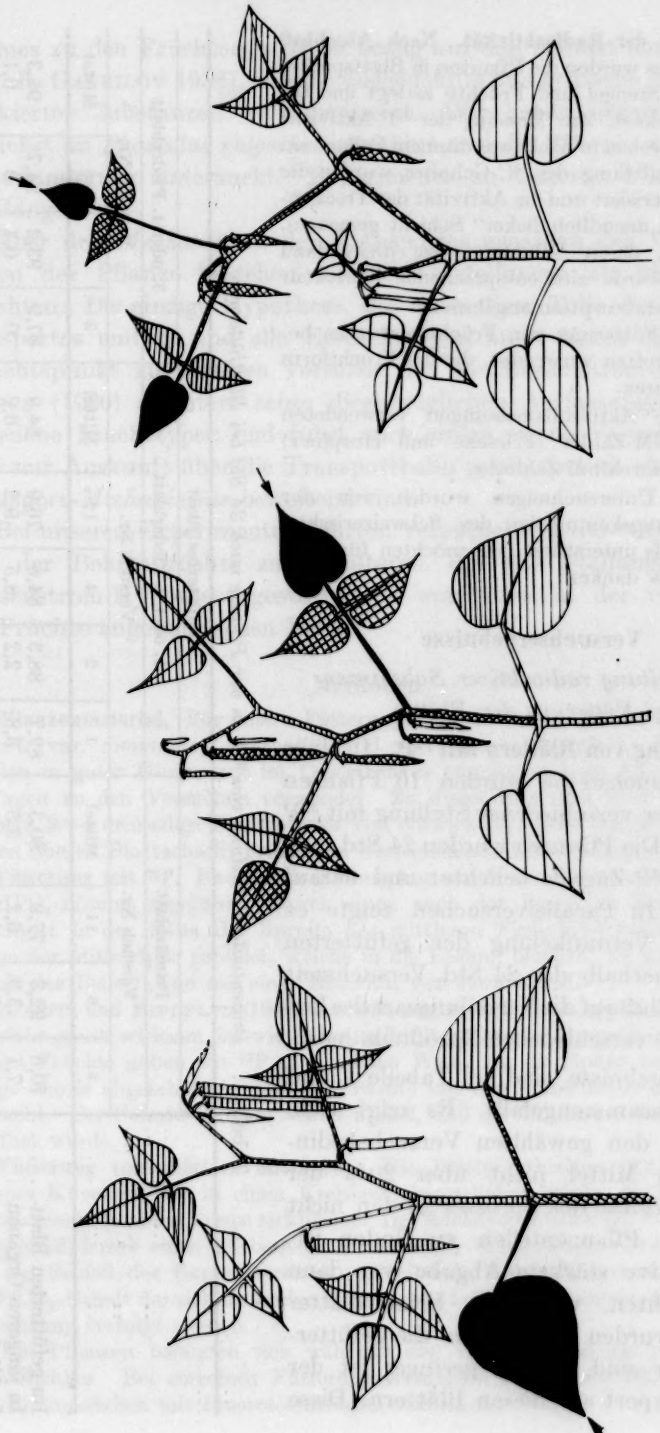

Abb. 1a—c. Verteilung von ^{32}P im Sproß nach Blattfütterung. Gefüttertes Blatt mit Pfeil bezeichnet. Spezifische Aktivität (Impulse pro 100 mg Trockengewicht): □ 0—100, ▤ 100—1000, ▤ 1000—10000, ⊠ 10000—100000, ■ über 100000

Art der Verteilung ist für ^{32}P auch schon von KOONTZ und BIDDULPH (1957) an etwas jüngeren Pflanzen erhalten worden.

In bezug auf die gesamte ^{32}P-Aufnahme durch die *Früchte* scheint nach Tabelle 1 die Stellung der gefütterten Blätter keinen großen Einfluß zu haben. Abb. 1a zeigt, daß das vor allem beim Vergleich zwischen dem Erfolg der Fütterung eines Primärblattes und des ersten Laubblattes zutrifft. Von den jüngsten Blättern aus werden aber die ältesten Früchte doch schlechter versorgt als die näherstehenden. Auffallend ist (s. Abb. 1a) die Tatsache, daß die spezifische Aktivität der Bohnenfrüchte ganz verschieden von der des Tragblattes sein kann. Dabei werden sowohl höhere wie niedrigere Werte beobachtet. Somit wird die ^{32}P-Aufnahme nicht durch die relative Stellung von Frucht und gefüttertem Blatt, sondern durch andere Eigenschaften der Früchte reguliert. Auf dieses Problem wird im letzten Abschnitt dieser Arbeit noch näher eingegangen.

Was die Frage nach dem Transportgewebe für ^{32}P im Fruchtstiel betrifft, führten wir Versuche durch, bei denen der Stiel eines Fruchtstandes durch Dämpfen abgetötet wurde. In einem Fall entsprachen die morphologischen Verhältnisse der Abb. 1c; die drei Früchte in der Achsel des zweitjüngsten Blattes gehörten jedoch alle zum selben Fruchtstand, dessen Stiel durch einen Dampfstrahl abgetötet wurde. Obwohl das unmittelbar benachbarte jüngste Blatt ^{32}P erhielt, nahmen die drei Früchte in diesem Fall praktisch kein radioaktives Material auf. Es darf daraus geschlossen werden, daß der Import der ^{32}P-haltigen Substanzen über lebendes Gewebe, d.h. das Phloem des Fruchtstieles erfolgt.

Fütterung von Blättern mit $^{14}CO_2$. Die Versuchspflanzen erhielten 100—200 μ C $^{14}CO_2$ über Blätter verschiedener Stellung. Sie wurden dabei 24 Std ununterbrochen belichtet. Nach Entfernung des nicht assimilierten Restes an $^{14}CO_2$ aus dem Zirkulationssystem ließen wir die Pflanzen noch weitere 24 Std bis zur Zerlegung im Gewächshaus (20—22° C, Tageslicht).

Die Versuchsresultate sind in Tabelle 2 und in Abb. 2a—c zusammengefaßt. Es ist offensichtlich, daß der Export von ^{14}C-markierten Assimi-

Tabelle 2. *Prozentuale Verteilung von ^{14}C in der Pflanze nach 48 Std bei Blattfütterung*

	Gefüttertes Blatt								
	3. oder 4. Fiederblatt			1. oder 2. Fiederblatt			Primärblatt		
	Versuch Nr.			Versuch Nr.			Versuch Nr.		
	4	5	Mittel	2	3	Mittel	1	14	Mittel
Im gefütterten Blatt .	46,3	52,9	49,60	64,7	55,1	59,9	78,6	80,6	79,60
In jüngeren Organen .	0,6	0,3	0,45	10,0	3,8	6,9	12,8	0,8	6,80
In älteren Organen . .	0,2	0,1	0,15	1,1	2,1	1,6	0,2	0,1	0,15
In Früchten	52,9	46,7	49,80	24,2	39,0	31,6	8,4	18,5	13,45

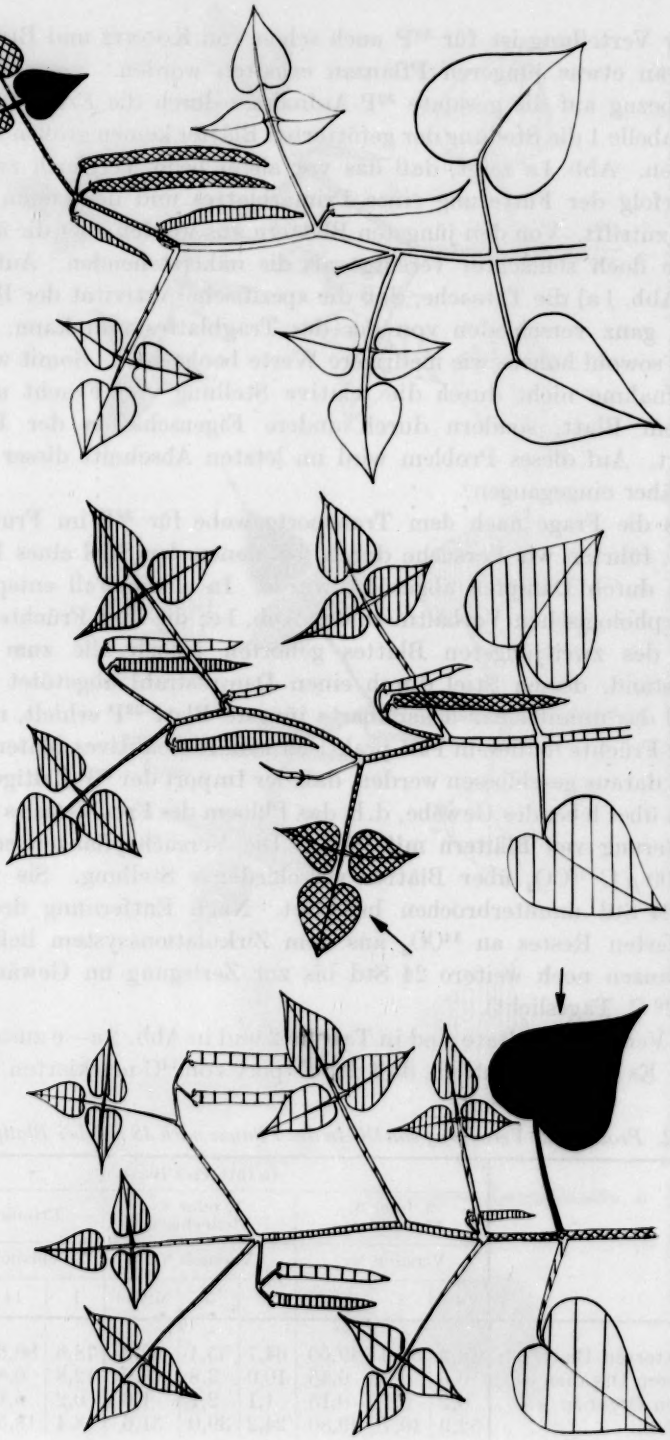

Abb. 2a—c. Verteilung von ^{14}C im Sproß nach Fütterung von $^{14}CO_2$ an Blätter verschiedener Stellung. Die Schraffierungsstufen geben wieder die relative spezifische Aktivität an (wie in Abb. 1a—c)

laten aus Blättern anderen Regeln unterworfen ist als der Phosphattransport. Von den Primärblättern zu den jüngsten Laubblättern ist eine systematische Abstufung in bezug auf den relativen Anteil zurückgebliebener, bzw. exportierter Assimilate zu beobachten: je jünger das Blatt, um so *mehr* Assimilate werden aus ihm exportiert. Die aufnehmenden Teile sind einerseits die hier nicht berücksichtigten Wurzeln, andererseits aber vor allem die Früchte. Die jüngsten Blätter müssen mehr als die Hälfte des aufgenommenen ^{14}C wieder abgegeben haben, da ohne die Wurzel im Sproß allein die Gesamtaktivität der Früchte gleich der Restaktivität des gefütterten Blattes ist. Auffallend ist auch, daß außer den Früchten die übrigen Sproßteile wenig Assimilate erhalten haben. Werden Blätter mittlerer Stellung oder Primärblätter gefüttert, so verteilt sich die Aktivität im Sproß mehr als bei Fütterung junger Blätter. Vergleicht man in Tabelle 2 die Versuche mit Fütterung jüngerer und mittlerer Blätter, so scheint es, als ob die jungen Blätter sowohl viele Assimilate exportierten — allerdings nur an die Früchte —, als auch solche von älteren Blättern aufnehmen (vgl. auch JONES et al. 1959).

2. Verteilung radioaktiver Substanzen bei Fütterung der Früchte

Fütterung von Früchten mit ^{32}P. In 5 Versuchen erhielten etwa 5—7 cm lange, noch wachsende Früchte je 150 μC ^{32}P in Form einer NaH_2PO_4-Lösung. Pro Pflanze wurde eine Frucht durch Injektion über die abgeschnittenen Fruchtspitzen gefüttert. 24 Std nach Fütterungsbeginn wurde die Pflanze zerlegt und die Aktivität der verschiedenen Organe ermittelt. Die Verteilung im Sproß ist aus Tabelle 3a und b ersichtlich.

Tabelle 3a. *Prozentuale Verteilung von ^{32}P in der Pflanze nach 24 Std bei Fruchtfütterung*

	Versuch Nr.					
	1	2	3	4	5	Mittel
In gefütterter Frucht	94,6	98,9	97,9	97,7	95,1	96,84
In anderen Früchten	2,2	0,2	0,4	1,7	1,0	1,10
In Organen oberhalb der Fütterungsstelle	1,5	0	0,1	0,1	2,4	0,82
In Organen unterhalb der Fütterungsstelle	1,7	0,9	1,6	0,5	1,5	1,24

Tabelle 3b. *Spezifische Aktivität (Impulse pro Milligramm Trockengewicht) des in der Pflanze nach 24 Std verteilten ^{32}P bei Fruchtfütterung*

	Versuch Nr.					
	1	2	3	4	5	Mittel
Gefütterte Frucht . . .	107600	84750	57000	43333	29375	64412
Andere Früchte	82	9	13	59	578	148
Organe oberhalb	31	5	2	1	45	17
Organe unterhalb	12	7	24	6	16	13

Tabelle 4. *Prozentuale Verteilung von ^{14}C in der Pflanze bei Fruchtfütterung*

	Versuchszeit											
	24 Std							72 Std				
	Belichtung							Belichtung				
	nur Frucht belichtet			ganze Pflanze belichtet				nur Frucht belichtet		ganze Pflanze belichtet		
	Versuch Nr.			Versuch Nr.				Versuch 9		Versuch 10		
	1	2	Mittel	4	5	6	7	8	Mittel			
In gefütterter Frucht . . .	43,7	54,5	49,15	94,9	93,0	96,8	98,6	98,6	96,38	14,3	47,2	
In anderen Früchten . . .	55,9	45,2	50,5	1,9	5,7	2,0	0	1,4	2,2	61,0	43,3	
In jüngeren Organen . . .	0,2	0,1	0,15	1,5	1,3	0,6	0,9	0	0,86	3,9	1,2	
In älteren Organen . . .	0,2	0,2	0,2	1,7	0	0,6	0,5	0	0,56	20,8	8,3	

Wie zu erwarten, bleibt fast aller Phosphor, der den Früchten auf diese Weise zugeführt wird, in der behandelten Frucht. Immerhin ist bemerkenswert, daß auch die übrigen Sproßteile deutlich radioaktiv sind. Wird die gemessene Radioaktivität auf das Trockengewicht bezogen (Tabelle 3b), so findet sich auch in den nicht gefütterten Früchten eine höhere spezifische Aktivität als in den vegetativen Organen.

Fütterung von Früchten mit $^{14}CO_2$. Wird den grünen Hülsen radioaktives CO_2 gegeben, so nehmen sie bei Belichtung rasch einen Teil desselben auf. Da bei Bohnenfrüchten die Atmung in den von uns untersuchten Entwicklungsstadien bedeutend höher ist als die Assimilation, nehmen sie weniger (etwa ein Viertel) des dargebotenen radioaktiven Kohlendioxyds auf als die Blätter. Acht Pflanzen wurden 24 Std, zwei Pflanzen 72 Std nach Beginn der $^{14}CO_2$-Fütterung zerlegt. Wie in Tabelle 4 angegeben, wurden die Belichtungsbedingungen bei beiden Versuchszeiten so variiert, daß entweder die ganzen Pflanzen oder nur die gefütterten Früchte während der Versuchszeit Licht erhielten.

Die in Tabelle 4 zusammengefaßten Resultate zeigen bemerkenswerte Unterschiede in der Assimilat-Verteilung unter den verschiedenen Belichtungsbedingungen und in Abhängigkeit von der Versuchszeit. Wird die ganze Pflanze während 24 Std belichtet und erhält dabei eine Frucht $^{14}CO_2$, bleiben 93—99% der in der Pflanze aufgefundenen Radioaktivität in der gefütterten Frucht. Über-

raschenderweise werden aber Assimilate aus einer belichteten Frucht in die übrigen Teile der Pflanze geleitet, wenn sich diese im Dunkeln befinden. Dieser Export kann sehr hohe Beträge erreichen, was Experiment 9 bei 72 Std Versuchszeit zeigt. Die Radioaktivität aus der gefütterten Frucht gelangt zum weitaus größten Teil innerhalb von 24 Std in die übrigen Früchte. Später nehmen bei im Dunkeln gehaltenen Pflanzen auch die *unterhalb* der gefütterten Frucht stehenden vegetativen Pflanzenteile markierte Assimilate auf.

3. Die Abhängigkeit der Stoffaufnahme der Bohnenfrüchte von der Größe

Es ist darauf hingewiesen worden, daß die ^{32}P-Aufnahme der Hülsen von Buschbohnen aus Blättern nur wenig von der gegenseitigen Stellung im Sproß abhängt. Ein oberflächlicher Vergleich läßt schon die Bedeutung des Entwicklungsstadiums der Frucht erkennen. Um diesen Einfluß deutlich zu machen, wurden die Ergebnisse der Versuche mit ^{32}P-Blattfütterung in folgender Weise ausgewertet. Die gesamte in die Früchte transportierte Aktivität wurde als 100% angenommen und die prozentuale Aktivität der Einzelfrucht nach dem Trockengewicht der Früchte in Klassen von je 20 mg Trockengewicht gruppiert und die Klassenmittel errechnet (Abb. 3, Kurve a). Wird die prozentuale Verteilung durch das zugehörige Trockengewicht der Früchte dividiert und die Werte in der gleichen Art in Klassen gruppiert, erhält man die prozentuale Aktivitätsaufnahme pro Milligramm Trockengewicht der

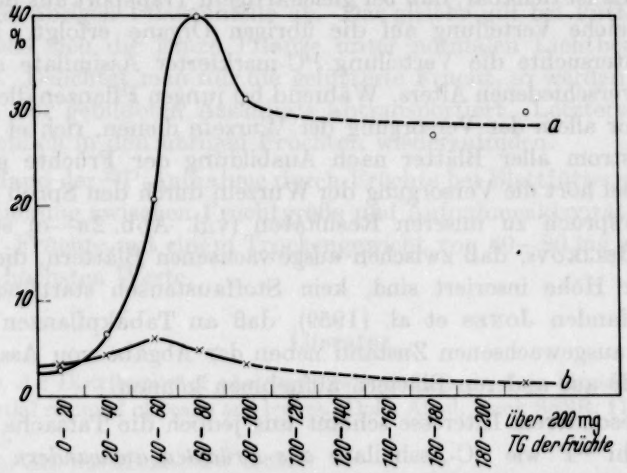

Abb. 3. Aufnahme von ^{32}P durch Bohnenfrüchte in Abhängigkeit von ihrem Entwicklungsstand. Kurve *a*: Relative Aktivität pro Frucht. Kurve *b*: Relative spezifische Aktivität der Früchte (bezogen auf 10 mg Trockengewicht)

Frucht (Abb. 3, Kurve b). Da Früchte mit einem Trockengewicht von 100—200 mg nicht häufig auftraten, sind in diesem Bereich keine Mittel-

werte angegeben (Abb. 3, gestrichelter Teil der Kurve). Im letzten Wert sind alle Früchte mit einem Trockengewicht von über 200 mg vereinigt.

Beide Kurven zeigen deutlich, daß die Aufnahme von ^{32}P-markiertem Phosphat aus Blättern in einem mittleren Entwicklungsstadium der Früchte am intensivsten vor sich geht. Die maximale Aufnahmegeschwindigkeit wird schon vor Erreichen des halben Gewichtes der ausgewachsenen Hülsen beobachtet.

Diskussion

Unsere Versuche zeigen, daß bei Bohnenpflanzen der Assimilatstrom in die wachsende Frucht nicht nur vom Tragblatt, sondern auch von weiter entfernten Blättern stammt. Das ließ sich sowohl für ^{14}C-haltige Assimilate nachweisen, wie für ^{32}P, welches ebenfalls mit dem Assimilatstrom aus Blättern exportiert wird. Die auffallenden Unterschiede zwischen der von den Blättern ausgehenden Verteilung von ^{14}C-markierten Assimilaten und ^{32}P-markiertem Phosphat lassen sich ohne weitere Untersuchungen schwer interpretieren; so kann an verschiedene Transportwege und Transportmechanismen gedacht werden. Biddulph et al. (1958) konnten zeigen, daß schon 1 Std nach Blattfütterung ^{32}P weniger lateral durch das Phloem ausgewandert war als ^{14}C-Assimilate. Diese und andere experimentelle Ergebnisse können kaum als Argumente für oder gegen einen bestimmten Transportmechanismus verwendet werden. Es ist denkbar, daß bei gleichartigem Transport aus dem Blatt eine ungleiche Verteilung auf die übrigen Organe erfolgt. Belikov (1955) untersuchte die Verteilung ^{14}C-markierter Assimilate an Sojapflanzen verschiedenen Alters. Während bei jungen Pflanzen die unteren Blätter vor allem der Versorgung der Wurzeln dienen, richtet sich der Assimilatstrom aller Blätter nach Ausbildung der Früchte ganz auf diese; dabei hört die Versorgung der Wurzeln durch den Sproß fast auf. Im Widerspruch zu unseren Resultaten (vgl. Abb. 2a—c) steht die Aussage Belikovs, daß zwischen ausgewachsenen Blättern, die in verschiedener Höhe inseriert sind, kein Stoffaustausch stattfinden soll. Dagegen fanden Jones et al. (1959), daß an Tabakpflanzen Blätter selbst im ausgewachsenen Zustand neben der Abgabe von Assimilaten noch Stoffe aus anderen Blättern aufnehmen können.

Von besonderem Interesse scheint uns jedoch die Tatsache zu sein, daß sowohl ^{32}P wie ^{14}C-Assimilate *aus Früchten auswandern* können. Der Assimilatstrom in die Früchte ist also teilweise oder vollständig umkehrbar. Vielleicht besteht aber zwischen der Frucht und den übrigen Teilen der Pflanze eine Stoffzirkulation, wie das Kursanov (1961) für die vegetativen Teile postuliert hat. Münch (1931) hatte

angenommen, daß in die Frucht ein Assimilat-Massenstrom einfließt, dessen Lösungswasser entweder transpiriert wird oder bei fleischigen Früchten zum Teil zurückbleibt. Einen Export organischer Substanzen aus Früchten hielt er für unmöglich. Für eine weitere Analyse dieser Erscheinung ist zunächst die genaue Lokalisierung des ein- und austretenden Assimilatstromes in den Fruchtstielen erforderlich. Ferner müssen die Bedingungen bekannt sein, von denen Geschwindigkeit und Richtung der Assimilatströme im Fruchtstiel abhängen. Entsprechende Untersuchungen sind von uns in Angriff genommen worden und werden in Kürze veröffentlicht.

Zusammenfassung

Bei Blattfütterung wird ^{32}P in 24 Std aus alten Blättern bis zu 20%, aus jungen Blättern nur in sehr geringem Maß abtransportiert. Der durch die Früchte aus den Transportbahnen aufgenommene Anteil ist jedoch in allen Fällen von ähnlicher Größe.

Dagegen wird ^{14}C aus jungen Blättern in größerem Umfange abtransportiert als aus alten. Dadurch, daß der größte Teil austransportierter Stoffe in die Früchte gelangt, kann angenommen werden, daß vor allem die jungen Blätter für das Wachstum der Früchte von Bedeutung sind.

Mit ^{32}P gefütterte Früchte geben nur sehr geringe Mengen an Aktivität an die übrigen Pflanzenteile ab. Das gleiche gilt bei Fütterung mit $^{14}CO_2$, falls sich die ganze Pflanze unter normalen Lichtbedingungen befindet. Belichtet man nur die gefütterte Frucht, so werden in 24 Std bis 50% der gebildeten Assimilate abtransportiert. Letztere sind fast ausschließlich in den übrigen Früchten wiederzufinden.

An Hand der ^{32}P-Aufnahme durch Früchte bei Blattfütterung konnte eine Beziehung zwischen Fruchtgröße und Aufnahmeaktivität bestimmt werden. Früchte mit einem Trockengewicht von 60—80 mg zeigten die absolut höchsten Werte.

Literatur

Belikow, J.: Distribution of photosynthesis products in *Soja hispida* in the case of partial removal of beans and leaves. Dokl. Akad. Nauk SSSR. **117**, 904—905 (1957).

— (1955): Zit. aus Kursanow 1961.

Biddulph, S., O. Biddulph and R. Cori: Visual indications of upward movement of foliar applied ^{32}P and ^{14}C in the phloem of the bean stem. Amer. J. Bot. **45**, 648—652 (1958).

Gavrilov, L.: Ein Versuch zur physiologischen Analyse des Gipfelns der Weintraube. Z. Inst. bot. Akad. Nauk URSR. **18/19**, 97—109 (1938).

JONES, H., R. V. MARTIN and H. K. PORTER: Translocation of ^{14}C in Tobacco following Assimilation of ^{14}C-dioxide by a single leaf. Ann. Bot., Lond., N. S. **23**, 493 (1959).

KOONTZ, H., and O. BIDDULPH: Factors affecting absorption and translocation of foliar applied phosphorus. Plant Physiol. **32**, 463—470 (1957).

KURSANOW, A. L.: Der Transport organischer Stoffe in den Pflanzen. Endeavour **20**, 19—25 (1961).

LINCK, A. J., and C. A. SWANSON: A study of several factors affecting the distribution of ^{32}P from the leaves of *Pisum sativum*. Plant and Soil **12**, 57—68 (1960).

MÜNCH, E.: Die Stoffbewegungen in der Pflanze. Jena: Gustav Fischer 1930.

SWANSON, C. A.: Translocation of organic solutes. In: Plant Physiology (Editor: F. C. STEWARD), Vol. II, pp. 481—551. New York: Academic Press 1959.

Prof. Dr. H. WANNER,
Institut für Allgemeine Botanik der Universität Zürich (Schweiz)

Planta 57, 543—556 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

ÜBER DEN EINFLUSS DES LICHTES AUF DEN PROTEINSTOFFWECHSEL BEI KEIMLINGEN VON *SINAPIS ALBA* L.

Von

JOHN ELSEMORE LANDGRAF

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 6. September 1961)

Einleitung

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit quantitativen Änderungen im Proteingehalt junger Keimlinge von *Sinapis alba* unter dem Einfluß von morphogenetisch wirksamem Licht. Neuere photobiologische Ergebnisse, die von MOHR (1960) sowie BORTHWICK und HENDRICKS (1960) zusammengefaßt wurden, ermöglichen für diese Pflanze eine genauere Charakterisierung der Lichtreaktion, die mit Änderungen im Eiweißgehalt verknüpft ist, als frühere Arbeiten auf diesem Gebiet zeigen konnten [vgl. MURNEEK (1937), PARKER und BORTHWICK (1939), MCCOY, SUBLETT und DOBBS (1953), METZNER (1955), MADAN (1956)]. Zu Untersuchungen sind besonders die jungen Keimlinge von *Sinapis alba* geeignet, die unter genau kontrollierbaren konstanten Standardbedingungen des Wachstums und der Belichtung aufgezogen wurden. Es wird hier gezeigt, daß der Eiweißgehalt der Keimlinge von *Sinapis alba* durch das gleiche Photosystem wie die anderen genau untersuchten Photomorphosen bei der gleichen Pflanze kontrolliert wird.

Experimenteller Teil

1. Methodik

a) Material. Das verwendete Samenmaterial von *Sinapis alba* L. hat mir freundlicherweise Herr Prof. Dr. H. MOHR zur Verfügung gestellt. Das gleiche Saatmaterial ist schon mehrmals untersucht worden (MOHR 1959a, 1959b, MOHR und PICHLER 1960, MOHR und PETERS 1960). Über längere Zeit wurden die Samen bei 2—4° C aufbewahrt. Nur die gelben, runden, fehlerfreien, mittleren bis großen Samen wurden für die Versuche ausgewählt.

b) Allgemeiner Versuchsansatz. Im wesentlichen wurde die Versuchsanordnung von MOHR u. Mitarb. übernommen. Farblose Kunststoffbehälter („Gerda" $10 \times 10 \times 6$ cm) wurden zu $^1/_3$ mit Leitungswasser gefüllt und drei Lagen 8×8 cm Keimpapier darin gequollen (Charybdis-Löschpapier 9/42/II). 12 Std später wurde alles freie Wasser abgegossen. Auf dem Papier wurden insgesamt 25 Samen etwa äquidistant auf drei konzentrischen Kreisen mit Radius 0,5, 1,5, 2,5 cm ausgesät. Außerdem wurde, um mit Sicherheit genügend normale Pflanzen zu bekommen, in jeder Ecke je ein weiterer Same ausgelegt. Nach der Aussaat wurden 4 ml

Leitungswasser von 25° C zugefügt. Um Änderungen in der Luftfeuchtigkeit und Schädigung der feinen, höchstempfindlichen Wurzelhaare durch mehrmaligen Wechsel des Deckels zu vermeiden, wurden die Gefäße gleich anstelle des Plastikdeckels mit genau passenden Glasplatten (10 × 10 cm) abgedeckt und mit zwei kleinen Klebestreifen am Rand befestigt. Die Dosen wurden in schwarzen undurchsichtigen Stoff eingewickelt und in lichtdichte Kartons gestellt. Alle Versuche wurden bei 25 ± 0,5° C durchgeführt. Mit den Belichtungen wurde, sofern nicht anders angegeben, 24 Std nach der Aussaat begonnen. — Ernte: Damit die Zeitdauer zwischen Aussaat und Ernte stets gleich war, wurde für jede einzelne Dose die genaue Zeit der Aussaat registriert. Nachdem die entsprechende Zeit verstrichen war, wurde dann geerntet. Die Ernte erfolgte bei Zimmertemperatur unter abgeschwächtem grünem Licht (Osram HNE 203/3 hellgrün). Von jeder Dose wurden die 18 größten Keimlinge mit Testa (hinsichtlich der Länge des Hypokotyls) ausgewählt und in drei Gruppen zu je sechs Pflanzen aufgeteilt. Jede Gruppe wurde in Aluminiumpapier eingewickelt und sofort in Trockeneispulver gefroren. Bis zur Auswertung wurden die eingewickelten Pflanzen in einem Tiefkühlschrank bei —20° C gehalten. Im allgemeinen wurden alle Proben innerhalb von 2—3 Wochen aufgearbeitet.

c) Analyse. Für die Analyse wurden die Proben (meistens sechs Pflanzen je Probe) einzeln aus dem Tiefkühlschrank geholt, ausgewickelt und sofort mit Methanol in einem Achatmörser (6 cm innerer Durchmesser) gemahlen. Dieser Brei wurde quantitativ überführt in Zentrifugengläser (25 ml Kapazität), indem der Mörser mehrmals mit Methanol gewaschen wurde. Unlöslicher hochmolekularer Stickstoff (hier definiert als „Protein-N") wurde von den stickstoffhaltigen Komponenten mit niedrigerem Molekulargewicht („löslicher N") durch zentrifugale Extraktion mit den folgenden Lösungsmitteln in folgender Reihe getrennt: einmal Methanol, einmal heißes Äthanol, zweimal 70%iges Äthanol, einmal heißes Wasser, jeweils 2,5 ml Lösungsmittel pro Pflanze. Der so bestimmte Proteinstickstoff ist sicher in seiner Zusammensetzung etwas verschieden von Proteinfraktionen, die mit anderen Fällungsmitteln, wie Trichloressigsäure, Phosphorwolframsäure usw. erhalten werden. So sind hier besonders Unterschiede im Gehalt an Prolaminen, die löslich in 70—80%igem Äthanol, aber unlöslich in Wasser oder 100%igem Äthanol sind, zu erwarten. Da aber Vertreter der Prolamine fast ausschließlich in Gräsern vorkommen (s. WALDSCHMIDT-LEITZ im Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 8, S. 301, Tabelle 9), sind die hier berichteten Ergebnisse kaum auf Unterschiede im Extraktionsverfahren zurückzuführen.

Nach Zentrifugation wurde jedesmal der Überstand vorsichtig von dem Niederschlag mittels einer mundkontrollierten Konstriktionspipette (1 ml) entfernt und sofort in Kjeldahlkolben (100 ml) gebracht. Nach Ansäuern mit zwei Tropfen H_2SO_4 wurde jeweils die Flüssigkeit bis auf etwa 2 mm abgedampft. Nach der letzten Extraktion wurde der Rückstand durch mehrmaliges Waschen mit destilliertem Wasser und zuletzt mit Äthanol mittels eines Glasstabes quantitativ in einen Kjeldahl-Kolben (100 ml) überführt. Parallel wurde jedesmal für das entsprechende Lösungsmittel der Blindwert mitbestimmt. Nach Veraschung für 1,5 Std nach Klärung mit 1 ml H_2SO_4 (Merck p.a.) + etwa 80 mg Selenreaktionsgemisch/Wieninger (Riedel-de-Häen) und Überführung des Ammoniaks in 2%ige Borsäure wurden Kjeldahl-N, „lösliche" und „Protein"-Fraktion titrimetrisch (N/100 HCl-Indicator: Methylrot-Bromocresolgrün) (MA und ZUZAGO 1942) bestimmt.

d) Bezugsgröße. Die hier benutzte Bezugsgröße „Gesamt-N" (GN) ist die Summe aus „löslichem N" (lN) und „Protein-N" (PN). Sie scheint für diese Untersuchungen am meisten geeignet. PAECH (1956, S. 6—7) schreibt: „Ein Bezug auf Trockengewicht setzt voraus, daß sich dieses während des Versuches nicht ändert."

Weiterhin heißt es dort: „Bei entwickelnden Samen und Früchten, bei keimenden Samen sowie bei austreibenden Knospen oder vegetativen Reservestoffbehältern sind Trocken- und Frischgewicht so variabel, daß sie als Bezugsgrößen nur bei genauer Berücksichtigung dieser Veränderungen brauchbar wären." Außerdem schrieb McKee (1958, S. 526) über ein wahrscheinlich stabileres Pflanzenorgan, nämlich die Blätter: "Many workers have reported their results in terms of nitrogen as a percentage of the dry weight of the leaves. This method is unsatisfactory as changes in nitrogen are comparatively small and liable to be obscured by larger concurrent variations in other constituents." Hier ist der *Sinapis*-Keimling, der auf Papier in Leitungswasser gewachsen ist, ein geschlossenes System in Hinsicht auf den Gesamt-N, da zwischen belichteten und Dunkelpflanzen nie ein Unterschied im Gesamt-N aufgetreten ist. Der Wert für den Gesamt-N beträgt stets etwa 222 μg N $\pm$ 4,0/Keimling (72 Std nach Aussaat). Deshalb wurde Gesamt-N als Bezugsgröße für alle Versuche benutzt. Die Ergebnisse sind meistens als prozentuale Erhöhung über den Dunkelwert PN/GN angegeben

$$\text{Prozentuale Erhöhung} = \frac{\text{PN/GN (Belicht. Pfl.)} - \text{PN/GN (Dunkelpfl.)} \times 100}{\text{PN/GN (Dunkelpfl.}}.$$

Die in den Tabellen und Kurven angegebenen Werte stellen stets Mittelwerte aus den Bestimmungen mehrerer Proben dar (Anzahl der Proben $= n$). Zu diesen Mittelwerten wurde der mittlere Fehler nach der Formel $m = \pm \sqrt{\frac{(x-\bar{x})^2}{n\,(n-1)}}$ berechnet und teilweise in die Kurven eingetragen.

e) Lichtquellen. Alle Weißlicht-Versuche wurden mit Osram-HNT-Röhren durchgeführt, die praktisch keine Strahlung über 700 mμ aufweisen. Als Rotlichtquelle dienten die Philips-Rot-Röhren (TL 40 W/15), die fast ausschließlich Strahlung zwischen 600 und 700 mμ emittieren. Dunkelrot wurde mit Schott-Filter RG 9 und Schott-Filter KG 1 (jeweils $2 \times 150 \times 150$ mm) + 15 mm Wasser + 1 Osram 220—230 V, 100 W, 110° Concentra-Weitwinkelstrahler erzeugt. (Der Abstand zwischen Lampe und Pflanzen war 45 cm.) Dadurch wird praktisch nur Strahlung zwischen 700 und 900 mμ durchgelassen.

Die verwendete Interferenzfilter-Monochromatoranlage und die Meßinstrumente sind bei Mohr und Schoser (1959) beschrieben. Sehr vorteilhaft für die Erzeugung einer hohen Quantenstromdichte waren die hier benutzten Schott-Bandfilter (Typ AL). Die Bandfilter besitzen neben der größeren Steilheit der Kurvenflanken und damit weniger „unerwünschten Hintergrunds" eine wesentlich höhere Durchlässigkeit als Linienfilter. In Kauf genommen werden muß aber eine etwas größere Halbwertsbreite (HW = Breite der Durchlaßkurven bei der maximalen Durchlässigkeit/2), was aber für die damit gemachten Dosis-Effekt-Kurven weniger wichtig erscheint. Die abgestuften Energien wurden mit Schott-Neutralfiltern NG (10 und 1,0%) und NG 9 (0,1%) erzeugt.

2. Experimentelle Ergebnisse

a) Vergleich zwischen Dunkel- und Dauerweißlicht-Keimlingen. Änderungen im Proteingehalt bei Dunkelkeimlingen von *Sinapis alba* während der ersten 120 Std nach Aussaat sind in Abb. 1 angegeben. Schon zwischen 12 und 18 Std nach der Aussaat beginnt ein racher Abbau der Reserveeiweiße. Eine langsame Abnahme der absoluten Abbaugeschwindigkeit ist durch die leicht konkave Form der Kurve angedeutet. Ähnliche Abbauverläufe sind für Dunkelkeimung von Samen längst bekannt

(z. B. CHIBNALL 1939). Wenn die Samen bis unmittelbar vor Versuchsbeginn bei 2—4° C aufbewahrt werden, ist der 72-Std-Dunkelkontrollwert stets konstant (58,0% PN/GN). Werden die Samen aber längere Zeit (z. B. einige Wochen) vor Versuchsbeginn aus der niedrigen Temperatur in Zimmertemperatur übertragen, so scheint der Dunkelwert abhängig zu sein von der Zeitdauer des Aufenthaltes bei Zimmertemperatur, und zwar steigt er langsam von etwa 58 auf 62% (nach viermonatigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur) an. Dagegen bleibt der allgemeine Kurvenverlauf stets etwa gleich. Wenn man ab 24 Std nach der Aussaat mit Dauerweißlicht belichtet und zu verschiedenen Zeiten erntet (Abb. 1), so liegen die Licht-PN-Werte wesentlich höher als die PN-Dunkelwerte. Allerdings wird nie ein Anstieg des absoluten Proteingehalts über den Ausgangs-Dunkelwert erreicht.

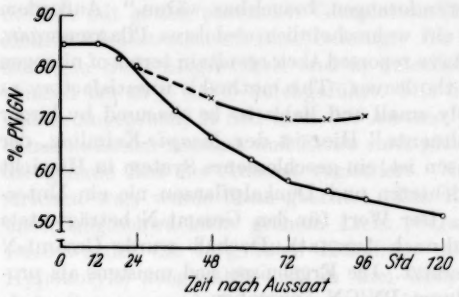

Abb. 1. o—o—o Änderung im Proteingehalt (% PN/GN) der *Sinapis alba*-Keimlinge in Dunkelheit während der ersten 120 Std nach Aussaat. ×—×—× Proteingehalt (% PN/GN) nach Dauerweiß-Belichtung (4300 Lux). Alle Pflanzen wurden 24 Std nach der Aussaat in Dauerweißlicht gebracht und zu verschiedenen Zeiten im Licht geerntet

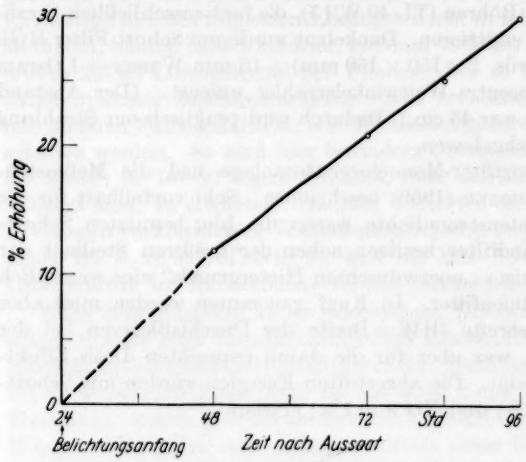

Abb. 2. Relative Erhöhung des Proteingehalts im Dauerweißlicht (4300 Lux). Gleicher Versuch wie in Abb. 1, jedoch Ergebnisse als prozentuale Erhöhung über den betreffenden Dunkelwert angegeben

Abb. 2 gibt die gleichen Ergebnisse an in prozentualer Erhöhung des PN über den Dunkelwert, wobei die Erhöhung des Proteingehaltes der Belichtungszeit (Dauerlicht) direkt proportional ist. Abfall in der Wirksamkeit des Lichtes: Beginnt man mit einer 24stündigen Dauer-Weißlichtbelichtung (Ernte jeweils gleich am Ende der 24-Std-Belichtung) nun nicht 24 Std, sondern erst 60 Std nach der Aussaat, so liegen die erreichten Absolutwerte wesentlich niedriger als bei den Versuchen, die den Belichtungsbeginn 24—48 Std nach Aussaat hatten (Tabelle 1). Es erfolgt also ein scharfer Abfall in der Wirksamkeit des Lichtes, etwa 60 Std nach der Aussaat.

Lünenschloss (1958, S. 8, Tabelle 1) fand ebenfalls einen Empfindlichkeitsabfall für das Blattwachstum bei *Sinapis alba* zwischen etwa 52—72 Std nach der Aussaat. Allerdings fand die Autorin eine größere Empfindlichkeit zwischen 48 und 52 Std als zwischen 24 und 28 Std. Eine solche Steigerung der Empfindlichkeit konnte ich bei meinen Versuchen nicht nachweisen, was aber möglicherweise in der geringen Anzahl der Versuche und in den längeren Belichtungszeiten begründet liegt. Die direkte Proportionalität der Dauerlichtkurve deutet aber auf keinen wesentlichen Empfindlichkeitsabfall in Keimlingen unter Dauerlichtbedingungen, wenn der Beginn der Belichtung vor etwa 50 Std nach der Aussaat liegt.

Tabelle 1. *Wirksamkeit des Lichtes in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des Belichtungsbeginns*

Die Ernte erfolgte jeweils am Ende der Belichtungszeit. In diesem Versuch beträgt *n* jeweils nur 2. Zu den angegebenen Zeiten nach der Aussaat wurde Weißlicht (4300 Lux) von 24 Std Dauer eingestrahlt.

Zeit der Belichtung (Std nach Aussaat)	Prozentuale Erhöhung	Zeit der Belichtung (Std nach Aussaat)	Prozentuale Erhöhung
24—48	11,75 ± 0,75	60—84	5,8 ± 0,7
36—60	11,7 ± 1,0	72—96	6,5 ± 1,0
48—72	12,5 ± 1,2		

Geben wir 24 Std Dauerweißlicht (zwischen 36—60 Std nach der Aussaat) und lassen auf diese Belichtungszeit noch eine Dunkelperiode folgen, so finden wir, daß der Proteingehalt weiter ansteigt und etwa 12 Std nach Beendigung der Belichtung seinen Maximalwert erreicht (Abb. 3). Dann folgt wieder ein ähnlich verlaufender Abfall. Lorenzen und Ruppel (1959, S. 398, Abb. 4) fanden in synchronisierten *Chlorella*-Kulturen (16 Std Licht : 12 Std Dunkel) ebenfalls eine, wenn auch verminderte, Fortsetzung der Proteinsynthese während der Dunkelphase.

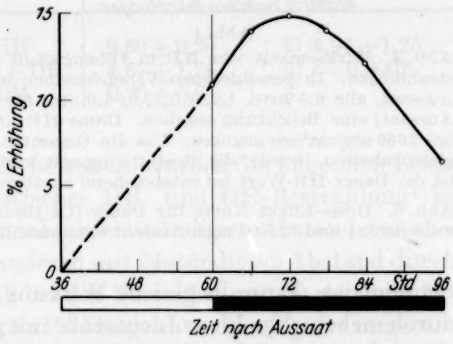

Abb. 3. Fortlauf der von Licht induzierten Erhöhung des Proteingehaltes während der nachfolgenden Dunkelphase. Dauerweißlicht (4300 Lux) zwischen 36—60 Std nach der Aussaat, anschließend Dunkelheit. Ernte erfolgte 60, 66, 72, 84 und 96 Std nach der Aussaat

Die vorliegenden Ergebnisse lassen wegen der Versuchsanordnung keine Rückschlüsse auf endogen bedingte Schwankungen des Proteingehaltes zu, schließen jedoch derartige Zusammenhänge nicht aus. Clauss und Schwemmle (1958) konnten eine endogene tagesperiodische Änderung im Proteingehalt nachweisen (parallel hierzu verliefen Änderungen in Trockensubstanz und Chlorophyllgehalt), und zwar unter 72 Std-Cyclen (16 Std Licht + 4 Std Zusatzlicht, das zu verschiedenen Zeiten während der nachfolgenden 56stündigen Dunkelperiode gegeben

wurde). Ob in Abb. 2 oder 3 eine „lag phase" vorliegt, läßt sich bei den vorhandenen geringen Differenzen in den ersten Stunden der Belichtung ohne Verwendung von „Tracers" nicht mit Sicherheit sagen.

b) Beteiligung des Hellrot-Dunkelrot-Systems am Proteinstoffwechsel. Die folgenden Versuche wurden durchgeführt, um festzustellen, ob die lichtinduzierte Proteinvermehrung durch die gleiche Photoreaktion wie die anderen Photomorphosen bei *Sinapis alba* kontrolliert ist. In mehreren Fällen, in denen das Hellrot-Dunkelrot-(HR-DR-)System

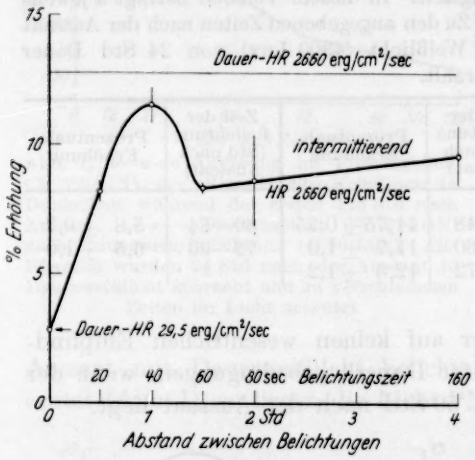

Abb. 4

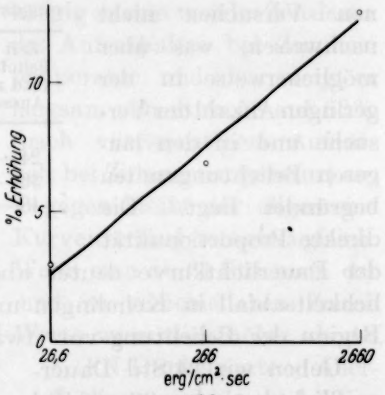

Abb. 5

Abb. 4. Wirksamkeit vom HR in Abhängigkeit von der Zeit zwischen den einzelnen Bestrahlungen. In verschiedenen Versuchsreihen wurde, jeweils beginnend 24 Std nach der Aussaat, alle 0,5 bzw. 1,0, 1,5, 2,0, 4,0 Std, für dauernd bis zur Ernte (72 Std nach der Aussaat) eine Belichtung gegeben. Dauer-HR und intermittierende Stöße wurden jeweils bei 2660 erg/cm²/sec gegeben. Um die Gesamtenergie an allen intermittierenden Punkten gleichzuhalten, wurde die Bestrahlungszeit variiert. Der 0-min-Wert auf der Ordinate ist der Dauer-HR-Wert bei entsprechend herabgesetzter (1/90) Intensität (29,6 erg/cm²/sec)

Abb. 5. Dosis-Effekt-Kurve für Dauer-HR-Bestrahlung. HR wurde jeweils für dauernd zwischen 24 und 72 Std nach Aussaat eingestrahlt. Die Ernte erfolgte 72 Std nach Aussaat

beteiligt ist, kann die gleiche Wirkung, wie sie Dauer-HR ergibt, auch durch mehrmalige kurze Lichtstöße mit geeigneten Dunkelpausen erreicht werden, MOHR (1959a, 1960), MOHR und NOBLÉ (1960). Daß dieses annähernd der Fall ist, zeigt Abb. 4, wo 90,2% des Dauer-HR-Effektes (die Bestrahlung erfolgte zwischen 24 und 72 Std nach Aussaat) dadurch erreicht wurden, daß jede Stunde 40 sec HR geboten wurde. Sehr bemerkenswert ist der Abfall in der Wirksamkeit, wenn man HR-Stöße öfters als jede Stunde gibt (es handelt sich auch hier nur um einen von mehreren Versuchen mit gleichartigen Ergebnissen). Daß das Dauer-HR hier nicht in einem Saturierungsbereich war, zeigt die Dosis-Effekt-Kurve für Dauer-HR-Bestrahlung in Abb. 5.

Das bedeutendste Ergebnis dieses Versuches ist, daß die Wirksamkeit einer HR-Bestrahlung von der Zeit zwischen den einzelnen Belichtungen bzw. der Länge der Dunkelperioden abhängig ist. Die Möglichkeit, den

Dauer-HR-Effekt auch durch mehrmalige kurze Lichtstöße zu erreichen, deutet bereits darauf hin, daß kein Effekt der Photosynthese vorliegt, sondern daß hier das morphogenetische HR-DR-System eine Rolle spielt. Bestätigt wird diese Vermutung durch die Reversibilisierung des HR-Effektes mit sofort anschließender DR-Bestrahlung (Tabelle 2). Zu bemerken ist hier der wesentlich größere Fehler bei den HR+DR-bestrahlten Pflanzen als bei solchen, die nur HR bzw. DR bekamen. Ähnliche Beobachtungen machte HAUPT (1960, S. 469) bei *Mougeotia*. Trotzdem ist hier der *t*-Wert kleiner als 0,0002 und das Ergebnis deshalb sehr gut gesichert. Außerdem handelt es sich hier nur um einen von mehreren Versuchen mit gleichartigem Ergebnis.

Tabelle 2. *Reversibilisierung des HR-Effekts mit anschließender DR-Bestrahlung*

Zwischen 24 und 72 Std nach der Aussaat wurde jeweils alle 1,5 Std 1 min lang belichtet, und zwar in einer Versuchsreihe mit HR, in der andern mit DR und in der dritten 1 min HR + 1 min DR (Δ Dunkel etwa 1 min). HR (440 erg/cm²/sec). DR (2930 erg/cm²/sec). Die Ernte erfolgte 72 Std nach Aussaat.

Belichtungen	Prozentuale Erhöhung	*n* Zahl	
HR	9,60 ± 0,20	5	4,94 ± 1,25
HR ± DR	4,67 ± 1,24	6	$t = 0{,}0002$
DR	0,20 ± 0,2	3	

c) Ein Vergleich zwischen HR- und DR-Wirkung. Da nun bekannt war, daß die Wirksamkeit einer HR-Bestrahlung vom zeitlichen Abstand der aufeinanderfolgenden Belichtungen abhängt und daß die maximale HR-Wirkung dann erreicht wird, wenn die Abstände zwischen den Belichtungen 60 min betragen, wurden die folgenden Dosis-Effekt-Kurven mit monochromatischer HR- und DR-Bestrahlung[1] bei gleicher Quantenstromdichte einmal mit einstündigem Abstand zwischen den Belichtungen (Abb. 6), zum anderen mit 24stündigem Abstand durchgeführt (Abb. 7). Abb. 6 zeigt, daß bei den Versuchen mit 60 min zwischen den Belichtungen die Erhöhung des Proteingehalts dem log der insgesamt eingestrahlten HR-Energie direkt proportional ist. Bei den entsprechenden Versuchen mit DR erhält man dagegen einen konkaven Anstieg der Kurve. Wo aber die gleiche Gesamtenergie in 24 Std Abstand zwischen Belichtungen eingestrahlt wird (Abb. 7), findet man bei kurzen Belichtungszeiten für beide HR und DR ein Plateau (hier ist HR wesentlich wirksamer als DR) mit nachfolgendem steilem Anstieg, wobei der DR-Effekt bei längeren Belichtungszeiten (hier Dauer DR) den von HR übersteigt. Mit ähnlichen Versuchsanordnungen konnte MOHR bei den verschiedenen Photomorphosen ein solches Plateau und einen nachfolgenden steilen Anstieg nachweisen. Reizmengengesetz: Tabelle 3 zeigt,

[1] 659 bzw. 729 mμ, Halbwertsbreite der Bandfilter je 22 mμ.

daß für die Stoßbelichtungen mit HR bei einstündigem Abstand wahrscheinlich das Reizmengengesetz gilt. Denn es läßt sich der gleiche Effekt erzielen, gleichgültig, ob die in beiden Fällen gleich große Gesamtenergie über einen kürzeren (3,6 sec oder 36 sec pro Stunde) oder über einen längeren (6 min pro Stunde) Zeitraum eingestrahlt wird. Für eine

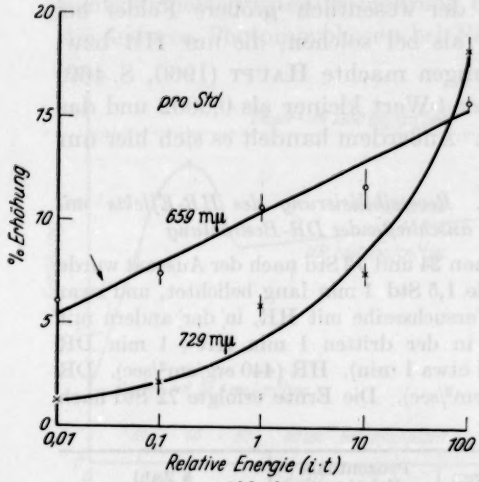

Abb. 6

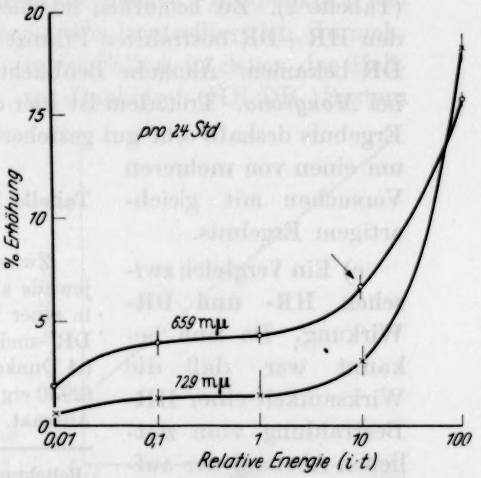

Abb. 7

Abb. 6 und 7. Vergleich zwischen Dosis-Effekt-Kurven mit 1stündigem (Abb. 6) bzw. 24stündigem (Abb. 7) Belichtungsabstand. Keimlinge werden mit monochromatischer HR- bzw. DR-Strahlung (gleicher Intensität in Quanten/cm²/sec 10000 erg/cm²/sec. bei 729 mμ, 11060 erg/cm²/sec bei 659 mμ) beginnend 24 Std nach der Aussaat, 48 Std lang nach den folgenden Programmen belichtet. Die Ernte erfolgte 72 Std nach der Aussaat

Abb. 6

Relative Energie ($i \times t$)	Belichtungszeit	Intensität erg/cm²/sec
100	DL = 60 min/Std	10000 bzw.*
10	6 min/Std	10000 bzw.
1	6 min/Std	1000 bzw.
0,1	6 min/Std	100 bzw.
0,01	6 min/Std	10 bzw.

Abb. 7

Relative Energie ($i \times t$)	Belichtungszeit	Intensität erg/cm²/sec
100	DL = 1440 min/24 Std	10000 bzw.*
10	144 min/24 Std	10000 bzw.
1	14,4 min/24 Std	10000 bzw.
0,1	1,44 min/24 Std	10000 bzw.
0,01	0,14 min/24 Std	10000 bzw.

Die gesamte eingestrahlte Energie ($i \times t$) ist in den zu vergleichenden Punkten beider Kurven jeweils gleich. In Abb. 6 ist die Belichtungszeit konstant und die Intensität variiert. In Abb. 7 dagegen ist die Belichtungszeit variiert und die Intensität konstant. n lag zwischen 3 und 7. DL = Dauerlicht. Die in der Tabelle angegebenen Intensitätswerte gelten für 729 mμ; für 659 gelten die oben angegebenen entsprechend höheren.

Bestrahlung mit DR scheint das Reizmengengesetz jedoch nicht zu gelten: Hier wurde gefunden, daß eine länger dauernde Einstrahlung (6 min) zu einem wesentlich höheren Effekt führt, als wenn die gleiche Gesamtenergie in 3,6 bzw. 36 sec dauernden Lichtstößen gegeben wurde. Allerdings ist diese Aussage statistisch nur schwach gesichert.

Vergleichen wir die in Abb. 6 und 7 dargestellten Bestrahlungsprogramme, so finden wir — wie aus den Versuchen der Abb. 4 zu

Tabelle 3. *Reizmengengesetz — Versuchsanordnung wie in Abb. 6 — geändert sind Belichtungszeiten und Lichtintensität*

Gesamte eingestrahlte Energie/Std	36000 erg/cm²		360000 erg/cm²	
Belichtungsintensität (erg/cm²/sec)	10000	100	10000	1000
Belichtungszeit/Std	3,6 sec	6 min	36 sec	6 min
HR	$8{,}35 \pm 1{,}0$ $n=7$	$7{,}37 \pm 0{,}5$ $n=3$	$10{,}93 \pm 1{,}1$ $n=4$	$10{,}66 \pm 0{,}7$ $n=7$
DR	$1{,}17 \pm 0{,}3$ $n=4$	$2{,}20 \pm 0{,}6$ $n=4$	$1{,}61 \pm 1{,}0$ $n=5$	$5{,}95 \pm 0{,}6$ $n=6$

erwarten war — eine erheblich größere Wirkung, wenn die Bestrahlung stündlich wiederholt wird, als wenn wir nur einmal in 24 Std bestrahlen, wobei die gesamte über 48 Std eingestrahlte Energie ($i \times t$) in den zu vergleichenden Punkten beider Kurven jeweils gleich ist. Greifen wir uns eine bestimmte Reaktion heraus (für HR: relative Erhöhung des PN 6,6% in den Kurven mit Pfeil bezeichnet), so finden wir ein Verhältnis von etwa 1:200 in den Energien, die in beiden Fällen notwendig sind, um diesen Wert zu erreichen. Das entsprechende Wirkungsverhältnis für DR beträgt etwa 1:50. Für HR dürfte dieses Ergebnis auch als quantitative Aussage genügende Sicherheit haben, obwohl im einen Fall die Intensität (Abb. 6), im anderen Fall die Dauer (Abb. 7) der Einzelbelichtungen variiert wurde, um zur Dosis-Effekt-Kurve zu gelangen; denn für die HR-Einzelbelichtungen scheint ja das Reizmengengesetz zu gelten. Für DR dagegen kann unserem Ergebnis in Anbetracht der fehlenden Gültigkeit des Reizmengengesetzes nur qualitative Bedeutung zugesprochen werden.

d) Proteinverteilung in belichteten Keimlingen und Dunkel-Keimlingen. In allen diesen Versuchen, auch bei Dauerbelichtung höchster Energie wird nie ein Anstieg des absoluten Eiweißgehaltes über den Ausgangswert der Dunkelkeimlinge erreicht (Abb. 1). Die Frage ist, ob die durch Licht verursachte Erhöhung des Eiweißgehalts auf einer Proteinsynthese oder auf gehemmtem Abbau des Reserveeiweißes beruht. Im folgenden Vergleich zwischen belichteten (alle 1,5 Std ein Rotlichtstoß von 1 min Dauer) und Dunkelpflanzen wurden die Kotyledonen (Reserveorgane!) mit Testa von Hypokotyl und Wurzel getrennt. In beiden Teilen wurde PN und LN bestimmt (Tabelle 4).

Da Hypokotyl und Wurzel frei von Reserveprotein sind, ist ihr Eiweißgehalt hauptsächlich durch neue Synthese verursacht. Die belichteten Hypokotyle und Wurzeln zeigen mit guter statistischer Sicherung eine Erhöhung des Proteingehalts um 15% und eine entsprechende Erniedrigung (21%) des LN gegenüber den gleichen Teilen von unbelichteten Pflanzen. Obwohl dieser Versuch nicht unbedingt die Beteiligung

Tabelle 4. *Verteilung von „Protein N" und „löslichem N" in belichteten Keimlingen und Dunkelkeimlingen*

Es wurde wieder zwischen 24 und 72 Std nach der Aussaat jeweils alle 1,5 Std für 1 min HR (440 erg/cm²/sec) eingestrahlt. Die Ernte erfolgte 72 Std nach Aussaat. Die Kotyledonen wurden mit einer Rasierklinge von Hypokotyl und Wurzel getrennt.

	Dunkelkeimlinge $n=6$	Belichtete Keimlinge $n=5$	Änderungen
Kotyledonen mit Testa:			
PN/GN	46,1 ± 0,73%	49,0 ± 0,74%	+ 6,4%
LN/GN	15,4 ± 0,36%	14,8 ± 0,32%	− 3,9%
Hypokotyl mit Wurzel:			
PN/GN	15,9 ± 0,35%	18,3 ± 0,58%	+15,0%
LN/GN	22,6 ± 0,61%	17,9 ± 0,67%	−21,0%
Gesamt PN/GN	62,0%	67,3%	+ 8,55%

anderer Faktoren, z. B. eine Änderung in der Leitungskapazität, ausschließt, ist es doch wahrscheinlich, daß die durch Licht verursachte Vermehrung des Proteingehalts auf einer Proteinsynthese beruht.

Diskussion

a) Zur Photoreaktion. In der vorliegenden Arbeit wurde auf verschiedene Weisen gezeigt, daß das gleiche Lichtsystem, das die verschiedenen Photomorphosen bei *Sinapis alba* kontrolliert, auch den Proteingehalt steuert.

1. Kurze HR-Stöße, die in einstündigem Abstand über 48 Std gegeben werden, können eine 48stündige HR-Belichtung (derselben Intensität) praktisch völlig ersetzen (Abb. 4).

2. Der Effekt von HR-Stößen kann mit DR reversibilisiert werden (Tabelle 2).

3. In einer Versuchsanordnung, die der von MOHR verwendeten ähnlich ist (in logarithmisch ansteigender Belichtungszeit im Abstand von 24 Std geboten), findet man im wesentlichen die gleichen Charakteristika im Ergebnis wie bei den von diesem Autor untersuchten Photomorphosen, d.h. bei kurzen Belichtungszeiten zeigen HR und DR ein gewisses Plateau. Entsprechend ist hier HR wesentlich wirksamer als DR. Dagegen zeigen die Kurven einen erneuten Anstieg, wobei nun bei längeren Belichtungszeiten die Wirkung von DR diejenige von HR übersteigt. Hier dürfte also eine Mitwirkung der Photosynthese höchstens indirekt auf die Regulation des Eiweißgehaltes wirken, auch wenn sich z. B. bei längeren HR-Belichtungen das Trockengewicht erhöht.

Vergleicht man die beiden Kurven in Abb. 6 und 7 mit solchen von MOHR (1959b, S. 223, Abb. 2 und S. 233, Abb. 7), die unter sehr

ähnlichen Versuchsanordnungen entstanden sind, so findet man erstaunlicherweise übereinstimmende Ergebnisse. In beiden Fällen zeigt sich — wenn man mit Rot statt einmal pro Tag mehrmals pro Tag belichtet (4mal pro Tag bei MOHR und hier 24mal pro Tag), zuerst eine wesentliche Erhöhung in der Wirksamkeit, außerdem eine direkte Proportionalität zum log der insgesamt eingestrahlten Energie. Wenn diese Ergebnisse auch nicht mit absoluter Sicherheit zeigen, daß nur *ein* Lichtsystem beteiligt ist, so zeigen sie doch mindestens die große Bedeutung des Abstands zwischen den einzelnen Belichtungen bzw. der Länge der Dunkelperiode. Es hängt also offenbar die Größe des Effektes nicht nur von Wellenlänge, Belichtungsdauer und Intensität ab, sondern auch von der Länge der dazwischengeschalteten Dunkelperioden.

Es soll daran erinnert werden, daß die Versuchsanordnung, die zu den Ergebnissen in Abb. 6 geführt hat, auf Grund der Ergebnisse in Abb. 4 ausgewählt wurde. Hier hatte sich gezeigt, daß die gleiche Gesamt-HR-Energie am wirksamsten ist, wenn sie in einzelnen Lichtstößen mit Zwischenabständen von etwa 60 min gegeben wird. Daß das gleiche für DR gilt, kann nicht ohne weiteres angenommen werden, und es scheint auch in der Tat nicht der Fall zu sein. Die gleiche Gesamtmenge eingestrahlter DR-Energie scheint um so wirksamer zu sein, je länger die Belichtungszeiten bzw. je kürzer die Dunkelperioden sind. Unter Dauerbelichtung oder auch bei längeren Belichtungszeiten ist DR hoher Intensität wirksamer als HR. Ob das bei unserer Reaktion auch für niedere Intensitäten zutrifft, wurde nicht geprüft, wäre aber interessant im Vergleich zu den Ergebnissen von HENDRICKS et al. (1959). Diese Autoren fanden, daß nur 2 erg/cm²/sec (0,2 μw/cm²) Dauerbelichtung für *Lamium amplexicaule* oder 8 erg/cm²/sec (0,8 μw/cm²) für *Lactuca sativa* var. Great Lakes einen „Hoch-Energie"- (MOHR) oder „continuous excitation" (HENDRICKS)-Effekt bewirken. Damit würden auch die Ergebnisse in Tabelle 3 in Übereinstimmung stehen, nach denen DR wirksamer ist, wenn es über einen längeren Zeitraum gegeben wird, während für HR-Belichtungen das Reizmengengesetz gilt.

Diese Resultate könnten bedeuten, daß der Unterschied zwischen HR- und DR-Wirkung bei Dauerbelichtung und bei kurzdauernden Lichtstößen möglicherweise auf eine verschiedene Wirkung von HR und DR in der Dunkelphase zurückzuführen wäre. Diese Interpretation könnte zu einer Erweiterung unserer jetzigen Vorstellung über das HR-DR-System führen: Es wären nämlich beide, P_{HR} und P_{DR} photomorphogenetisch wirksam, und es müßte eine dritte physiologisch inaktive Dunkelform des Pigments postuliert werden, deren Rückverwandlung aus den lichtaktiven Formen mit verschiedenen Geschwindigkeiten erfolgen würde.

Bevor diese Hypothese weiter diskutiert werden kann, müßten umfangreiche reaktionskinetische Untersuchungen auf dieser Grundlage

durchgeführt werden, wofür allerdings die hier analysierte Reaktion aus vielerlei methodischen Gründen nicht geeignet erscheint. Immerhin erscheint mir diese Vorstellung auch nicht gewagter als die beiden jetzigen Theorien (MOHR, HENDRICKS), und falls sie nicht richtig sein sollte, so könnte sie doch zu weiteren Studien über die Bedeutung der Dunkelperiode Anregung geben.

b) Zur möglichen Bedeutung der Änderung des Proteingehalts in der Entwicklung der Pflanze. Zwischen primärer Lichtreaktion und Photomorphose sind zweifellos viele biochemische Reaktionsstufen eingeschaltet. Natürlich muß die Frage offenbleiben, ob die hier beobachtete Wirkung auf den Protein-Stoffwechsel innerhalb dieser Reaktionskette liegt oder ob wir es mit einem sekundären Effekt zu tun haben. Jedoch weisen neuere Arbeiten von HESS (1959, 1961), GULICH (1960) und insbesondere SALISBURY und BONNER (1960) auf eine mögliche integrale Beteiligung des Nucleinsäurestoffwechsels in der Photomorphogenese hin. Auch meine Arbeit bekräftigt jene Ansichten, indem sie zeigt, daß die photomorphogenetische Lichtreaktion den Proteingehalt in *Sinapis alba*-Keimlingen reguliert, wobei es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um eine Eiweißsynthese handelt. Die Annahme, daß die lichtinduzierte Erhöhung des Eiweißes durch Proteinsynthese zustande kommt und nicht auf der weniger wahrscheinlichen alternativen Hemmung des Reserveeiweißabbaues beruht, wird weiter gestützt durch zahlreiche neuere Arbeiten aus dem Gebiet der Biochemie der Morphogenese, wo auf der molekularen Stufe die Entwicklung als eine progressive Änderung von einem „steady-state" zu einem anderen mit entsprechender Änderung in dem Verhältnis der einzelnen Enzyme zueinander erscheint (s. insbesondere Symposium von BETLEY und CLASS, Chemical Basis of Development 1958). MOHR (1960) meint, daß die primäre Lichtreaktion zu einer fundamentalen Umsteuerung des Stoffwechsels in der Zelle führt, und als Resultat dieser Umsteuerung entstehen letztlich die Photomorphosen.

Um näher an die primäre Lichtreaktion heranzukommen, ist die Frage von besonderem Interesse, ob diese Wirkung in den DNS-Stoffwechsel eingreift oder ob der Effekt auf Reaktionsstufen zwischen RNS und Proteinsynthese zurückzuführen ist. Möglicherweise könnte ein Vergleich der HR-DR-Reaktion in kernhaltigen und kernlosen Pflanzenteilen z. B. bei *Acetabularia* besonders nützlich sein.

Summary

This investigation deals with quantitative increases in protein content within young seedlings of *Sinapis alba* L. upon exposure to light. The

photoreaction responsible for these changes has been identified with the photomorphogenic reaction system by the following criteria:

a) The increase in protein under continuous red illumination can also be attained by repeated short exposures to red light when appropriate dark period intervals are given.

b) This red effect can be reversed by far-red.

c) Under continuous illumination far-red is more effective than red.

The dark period has been shown to play an important role here, for the size of the measured effect depends not only on the wavelength, illumination time and intensity, but also on the length of the intermittent dark periods. Furthermore, certain evidence is presented whereby it appears that red and far-red illumination react differently to the dark period. The significance of these findings has been discussed.

Herrn Prof. Dr. E. Bünning möchte ich für sein freundliches Entgegenkommen und für sein stetes Interesse am Fortgang der Arbeit herzlich danken. Herrn Dr. W. Haupt sei für wertvolle Diskussionen Dank gesagt.

Literatur

Borthwick, H. A., and S. B. Hendricks: Effects of radiation on growth and development. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 16. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1960.

Chibnall, A. C.: Protein metabolism in the plant. New Haven: Yale University Press 1939.

Clauss, H., u. B. Schwemmle: Substanzproduktion und Chlorophyllbildung von Keimpflanzen in 72-Stunden-Zyklen mit aufgeteilter Lichtphase. Z. Bot. **47**, 226—250 (1959).

Gulich, L.: Veränderungen in der Nucleinsäure-Fraktion grüner Blätter im Zusammenhang mit photoperiodischer Induktion. Planta (Berl.) **54**, 374—393 (1960).

Haupt, W.: Die Chloroplastendrehung bei *Mougeotia*: II. Die Induktion der Schwachlichtbewegung durch linear polarisiertes Licht. Planta (Berl.) **55**, 465—479 (1960).

Hendricks, S. B., E. H. Toole, V. K. Toole and H. A. Borthwick: Photocontrol of plant development by the simultaneous excitations of two interconvertible pigments. III. Control of seed germination and axis elongation. Bot. Gaz. **121**, 1—8 (1959).

Hess, D.: Die selektive Blockierung eines an der Blühinduktion beteiligten Ribosenucleinsäure-Eiweiß-Systems durch 2-Thiouracil. Planta (Berl.) **54**, 74—94 (1959).

— Ribosenucleinsäure und Blühinduktion. Planta (Berl.) **56**, 229—232 (1961).

Lorenzen, H., u. H. G. Ruppel: Versuche zur Gliederung des Entwicklungsverlaufs der *Chlorella*-Zelle. Planta (Berl.) **54**, 394—403 (1960).

Lünenschloss, A.: Der Einfluß verschiedener Lichtqualitäten auf das Wachstum der Keimblätter von *Sinapis alba*. Unveröffentlichte Staatsexamensarbeit. Tübingen 1958.

Ma, T. S., and G. Zuazaga: Micro-Kjeldahl determination of nitrogen. A new indicator and an improved rapid method. Industr. Engng. Chem. (Anal.) **14**, 280—282 (1942).

Madan, C. L.: Die Verteilung der freien Aminosäuren in der Pflanze und ihre Beeinflussung durch photoperiodische Induktion. Planta (Berl.) **47**, 53—80 (1956).

McCoy, T. A., T. H. Sublett and V. W. Dobbs: The relation of the amino acid composition to the development of oats. Plant Physiol. **28**, 77—78 (1953).

McElroy, W. D., and B. Glass (edited by): The chemical basis of development. Baltimore: John Hopkins Press 1958.

McKee, H. S.: Nitrogen metabolism in leaves. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 8, S. 516—553. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

Metzner, H.: Veränderungen der Blattproteine bei photoperiodischer Induktion. Planta (Berl.) **45**, 493—534 (1955).

Mohr, H.: Der Lichteinfluß auf die Haarbildung am Hypokotyl von *Sinapis alba* L. Planta (Berl.) **53**, 109—124 (1959a).

— Der Lichteinfluß auf das Wachstum der Keimblätter bei *Sinapis alba* L. Planta (Berl.) **53**, 219—245 (1959b).

— Photomorphogenetische Reaktionssysteme in Pflanzen. 1. Teil: Das reversible Hellrot-Dunkelrot-Reaktionssystem und das Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem. Ergebn. Biol. **22**, 67—107 (1960).

—, u. A. Noblé: Die Steuerung der Schließung und Öffnung des Plumula-Hakens bei Keimlingen von *Lactuca sativa* durch sichtbare Strahlung. Planta (Berl.) **55**, 327—342 (1960).

—, u. E. Peters: Der Phototropismus und das lichtabhängige Längenwachstum des Hypokotyls von *Sinapis alba* L. Planta (Berl.) **55**, 637—646 (1960).

—, u. I. Pichler: Der Einfluß hellroter und dunkelroter Strahlung auf die geotropische Reaktion der Keimlinge von *Sinapis alba* L. Planta (Berl.) **55**, 57—66 (1960).

—, u. G. Schoser: Eine Interferenzfilter-Monochromatoranlage für photobiologische Zwecke. Planta (Berl.) **53**, 1—17 (1959).

Murneek, A. E.: Biochemical studies of photoperiodism in plants. Mo. Agric. exp. Stat. Res. Bul. 268 (1937).

Paech, K.: Allgemeine Maßnahmen und Bestimmungen bei der Aufarbeitung von Pflanzenmaterial. In: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, herausgeg. von K. Paech u. M. V. Tracey, Bd. 1, S. 1—25. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

Parker, M. W., and H. A. Borthwick: Effect of photoperiod on development and metabolism of the Biloxi soybean. Bot. Gaz. **100**, 651—659 (1939).

Salisbury, F. B., and J. Bonner: Inhibition of photoperiodic induction by 5-fluorouracil. Plant Physiol. **35**, 173—177 (1960).

Waldschmidt-Leitz, E.: Planzliche Eiweißkörper. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 8, S. 277—314. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

J. E. Landgraf, (U.S.A.), p. A.
Prof. Dr. E. Bünning,
(14b) Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstr. 5

Planta 57, 557—582 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

UNTERSUCHUNGEN ZUM PROBLEM DER BETEILIGUNG DES WUCHSSTOFFES AN DER GEOTROPISCHEN INDUKTION BEI KOLEOPTILEN

Von

INGEBORG HAHNE

Mit 15 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. August 1961)

Einleitung

Daß wachstumsregulierende Stoffe beim Zustandekommen der Tropismen eine wichtige Rolle spielen, wurde schon seit der Entdeckung der Auxine vermutet. WENT (1927) und CHOLODNY (1927) entwickelten etwa gleichzeitig die Vorstellung, daß das verschieden starke Wachstum der gegenüberliegenden Organflanken beim Photo- und beim Geotropismus durch eine seitliche Ablenkung des vorhandenen Wuchsstoffes zur Schatten- bzw. zur Unterseite bedingt sei. Diese Auffassung wurde durch die Versuche von DOLK (1930, 1936), DIJKMAN (1934), NAVEZ und ROBINSON (1933) und VAN DER LAAN (1934) gestützt, die alle feststellen konnten, daß es in der unteren Organhälfte von horizontalgelegten Pflanzen tatsächlich zu einer Anreicherung von Wuchsstoff kommt. Auch SCHRANK (1957) glaubt, daß ein Quertransport von Auxin eine erhebliche Rolle im Mechanismus der Tropismen spielt. Es lag nahe, für das Zustandekommen einer Wuchsstoffquerverschiebung beim Geotropismus den geoelektrischen Effekt verantwortlich zu machen, in dessen Feld eine polare Wanderung der dissoziierten Indolyl-3-essigsäure (IES) denkbar wäre. Gegen diese Auffassung sprechen jedoch Versuche von ANKER (1954), der feststellte, daß bei Koleoptilen Indolylacetonitril (IAN), obwohl nicht dissoziierbar, geotropische Reaktionen ebenso wirksam zu induzieren vermag wie die β-Indolylessigsäure.

Ernste Zweifel an der Theorie der Wuchsstoffquerverschiebung sind aber vor allem durch geotropische Versuche mit radioaktivem Wuchsstoff (REISENER 1957, CHING und FANG 1958, REISENER und SIMON 1960) und durch entsprechende phototropische Versuche von BÜNNING, REISENER, WEYGAND, SIMON und KLEBE (1956), und von GORDON und EIB (1956) aufgekommen. Dekapitierte *Avena*koleoptilen wurden allseitig mit 2^{14}C-markierter IES versorgt, sodann geotropisch oder phototropisch gereizt. Dabei war kein meßbarer Unterschied in der Radioaktivität der Ober- und Unterhälfte bzw. Licht- und Schattenflanke festzustellen. Es sei hier jedoch auf folgende Fehlermöglichkeit hingewiesen: sollte das

$2^{14}C$ gegen das $2^{12}C$ leicht austauschbar sein, so würde die Messung der $2^{14}C$-Verteilung kein verläßliches Maß für die IES-Verteilung liefern.

Falls sich diese Resultate bestätigen, so wären folgende zwei Interpretationen möglich:

1. Nicht das Auxin wird im Schwerefeld verlagert, sondern ein anderer verschiebbarer Faktor, der die Aktivität des gleichmäßig herabströmenden Auxins asymmetrisch verändert.

2. Das transversale elektrische Feld, das im Schwerefeld entsteht ruft eine physiologische Asymmetrie im induzierten Organ hervor, die sich in einem Empfindlichkeitsunterschied seiner beiden Hälften gegenüber dem Wuchsstoff äußert.

In beiden Fällen wäre eine Induktion des geotropischen Reizes dann auch ohne Wuchsstoff möglich. Trifft dies wirklich zu, so sollte sich die Induktion zeitlich von der Reaktion trennen lassen. Bereits ältere Versuche von BRAUNER (1923) deuten diese Möglichkeit an. BRAUNER brachte dekapitierte wuchsstoffarme *Avena*koleoptilen in horizontale Reizlage und setzte ihnen nach ihrer Vertikalstellung ihre ungereizt gebliebenen Spitzen wieder auf. Es erfolgte dann eine Krümmung im Sinne der vorherigen Induktion. Zum selben Resultat kamen BRAUNER und HAGER (1958), als sie dekapitierte *Helianthus*stümpfe geotropisch induzierten und sie dann von der apikalen Schnittfläche her mit IES aus Capillarröhrchen versorgten. BOTJES (1938) ließ Tomatenpflanzen durch Stehenlassen im Dunklen an Wuchsstoff verarmen; wenn er solche Pflanzen geotropisch induzierte und nach ihrer Vertikalstellung allseitig mit Auxinpaste versah, so führten sie eine Krümmung im Sinne der vorherigen Exposition aus. Andererseits glaubt jedoch DE WIT (1957) aus seinen Versuchen schließen zu müssen, daß Wuchsstoff bereits zur Aufnahme des geotropischen Reizes notwendig sei. Er übertrug dekapitierte *Avena*koleoptilen, die unter Wasser geotropisch induziert waren, in vertikaler Stellung in ein IES-Bad. Unter diesen Versuchsbedingungen erhielt er niemals eine geotropische Nachkrümmung.

Diese widersprechenden Ergebnisse gaben Veranlassung, in der vorliegenden Arbeit das Problem des geotropischen Induktionsvorganges bei Koleoptilen genauer zu untersuchen. Besondere Berücksichtigung erforderte bei diesen Organen das Phänomen der Regeneration der physiologischen Spitze. Zur Aufklärung ihrer Beteiligung an der Reaktion wurde das geotropische Verhalten dekapitierter Koleoptilen nach verschieden langen Wartezeiten nach der Dekapitation eingehend untersucht.

Material und Methodik

1. Versuchsraum und Anzucht des Versuchsmaterials

Die Anzucht des Versuchsmaterials und auch die Versuche selbst wurden in einer Dunkelkammer bei einer durchschnittlichen Temperatur von 21°C durch-

geführt. Die relative Luftfeuchtigkeit betrug 75%. Zur Beleuchtung des Raumes diente eine rote 40 W-Philips-Leuchtstoffröhre.

Als Versuchspflanzen dienten Keimlinge von *Avena sativa*, Rasse „Flämings Gold" aus der Saatzuchtanstalt Weihenstephan sowie von *Zea mays*, Hybrid Mais, C.I.V. 2. Prior, mittelfrühe Sorte aus der Saatzuchtwirtschaft Strube, Schöningen bei Braunschweig. Die Anzucht des Hafers erfolgte ohne Vorkeimung in Kulturgläschen (40 mm/20 mm ⌀) in feuchter Erde oder in Kästen mit feuchtem Sägemehl, je nach Bedarf. Die Maiskörner wurden in Petrischalen, die mit feuchtem Fließpapier ausgelegt waren, bei 30°C im Brutschrank 24 Std angekeimt und sodann in mit feuchter Erde gefüllte Kulturgläschen ausgepflanzt. Die Gläschen bzw. Kästen wurden in einem Brutschrank bei konstanter Temperatur von 22°C bei hoher Luftfeuchtigkeit gehalten. Wenn die Koleoptilen eine Länge von 5 mm erreicht hatten, was bei Hafer am dritten Tag, bei Mais manchmal schon am zweiten Tag der Fall war, wurden sie 2 Std lang mit einer roten Leuchtstoffröhre bestrahlt, um ein Auswachsen des ersten Internodiums zu verhüten. Danach wurden sie wieder in den Brutschrank zurückgebracht, wo sie bei derselben Temperatur am vierten Tag eine Länge von 25—30 mm erreichten; in diesem Zustand kamen die Koleoptilen zur Verwendung.

2. *Vorbereitung der Versuche*

α) Luftversuche. Je sieben möglichst gerade gewachsene Versuchspflanzen wurden mit ihren Kulturgläschen in einem Metallrahmen parallel zueinander festgeklemmt. Der Halter war mit einem Drehgelenk an einem schweren Metallfuß befestigt, so daß die Gläschen um 90° gekippt werden konnten (vgl. Brauner u. Hager 1958).

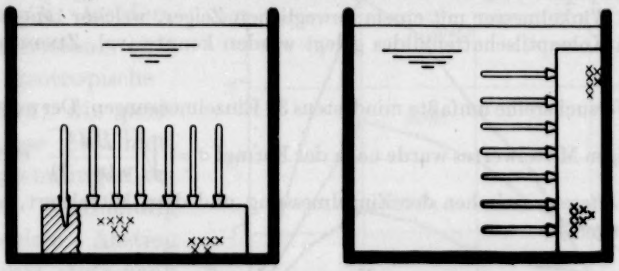

Abb. 1. Versuchsanordnung der Bäderversuche

β) Versuche in Wasser- und in Wuchsstoffbädern. Zur Durchführung dieser Versuche diente folgende einfache Apparatur. In Paraffinblöcke (10 × 3 × 3 cm) waren als Halter in Abständen von 1 cm konische Glasröhrchen mit der Spitze nach unten eingeschmolzen. Um ihr Hochschwimmen im Bad zu verhindern, wurden die Paraffinblöcke durch eingeschmolzene Glasscherben beschwert.

Möglichst gerade, an der Basis abgeschnittene Koleoptilen wurden in die konischen Glasröhrchen gesteckt, in die Proben verschiedenen Durchmessers hineinpaßten. Die mit Luft durchperlten Bäder befanden sich in rechteckigen Cuvetten, ihre Temperatur betrug 21°C.

Die Versuchsanordnung ist aus Abb. 1 ersichtlich.

In der geotropischen Reizlage waren die Koleoptilen verschieden weit von der Badoberfläche entfernt. Wie in Vorversuchen festgestellt wurde, hatte dies jedoch auf ihr Reaktionsvermögen keinen Einfluß.

3. Synthetische Wuchsstoffe

Als synthetische Wuchsstoffe dienten: Indolyl-3-essigsäure (IES) (Merck, Darmstadt) und α-Naphtylessigsäure (NES) (Theodor Schuchardt, München). Ferner wurde die potentielle Wuchsstoffvorstufe Indolylacetonitril (IAN) (Theodor Schuchardt, München) verwendet.

Die Wuchsstofflösungen wurden mit Wasser hergestellt, welches durch Ionenaustauscher gereinigt war und in seiner Leitfähigkeit etwa bidestilliertem Wasser entsprach.

4. Zufuhr von Wuchsstofflösungen

Sollten synthetische Wuchsstoffe apikal zugeführt werden, so wurden den dekapitierten Koleoptilen apikal konische Capillarröhrchen aufgesetzt, die die zu prüfenden Lösungen enthielten (vgl. BRAUNER und VARDAR 1950). — Zur allseitigen Wuchsstoffversorgung wurden die dekapitierten Koleoptilen in ein entsprechendes Bad eingebracht.

5. Registrierung der Krümmungen

Bei sämtlichen Versuchen wurde aus der Abweichung der Koleoptilspitze von der Vertikalen der Krümmungswinkel ermittelt. Wenn nicht anders angegeben, wurden die Nachkrümmungen gemessen, d. h. die Krümmungen, die nach dem Wiederaufrichten der Koleoptilen aus der Horizontallage eintreten. Die Reaktionen wurden nach der Schattenrißmethode registriert. Dabei wurde der von einer roten Glühbirne auf einen mit Transparentpapier bespannten Glasschirm geworfene Schattenriß der Koleoptilen nachgezeichnet. Als Bezugslinie diente eine auf dem Transparentpapier mitgezeichnete Horizontale. Zur Auswertung der Krümmungen diente ein Winkelmesser mit einem beweglichen Zeiger, welcher tangential an die Spitze des Koleoptilschattenbildes gelegt werden konnte (vgl. ZINSMEISTER 1960, Abb. 1).

Jede Versuchsreihe umfaßte mindestens 30 Einzelmessungen. Der mittlere Fehler des jeweiligen Mittelwertes wurde nach der Formel $\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n\,(n-1)}}$ ermittelt.

(d = Differenz zwischen der Einzelmessung und dem Mittelwert, n = Anzahl der Messungen.)

Vorversuche

1. Die geotropische Reaktion intakter Avena- und Maiskoleoptilen

a) Dauerreizlage. Bringt man intakte *Avena*- und Maiskoleoptilen in Dauerreizlage, so tritt nach einer schwachen positiven Vorphase eine kräftige negative Krümmung auf, die nach 4 Std bei *Avena* 55°, bei Mais 60° erreicht (vgl. Abb. 2). Nach den Versuchen von BRAUNER und ZIPPERER (1961) scheint die positive Vorphase aus einer passiven und einer aktiven Bewegungskomponente zu bestehen. Die passive Bewegungskomponente entspricht einem rein mechanischen Absinken der Koleoptile infolge ihres Gewichts, während an der aktiven Komponente der Bewegung vor allem ein Turgorverlust auf der Koleoptilunterseite, bedingt durch eine Erhöhung ihrer Wasserpermeabilität, beteiligt zu sein scheint.

Bei diesen sowie bei allen weiteren Versuchen wurden die *Avena*keimlinge in der Reizlage so orientiert, daß ihre lange Querschnittsachse senkrecht zur Krümmungsebene lag, da nach ANKER (1954) in dieser Lage die stärksten Krümmungen erreicht werden. Bei Maiskoleoptilen spielt die Orientierungsrichtung kaum eine Rolle, da sie im Querschnitt fast kreisrund sind.

b) Die geotropische Nachreaktion bei Koleoptilen nach Wiederaufrichten aus der Horizontallage. Koleoptilen, die nach der Horizontallage wiederaufgerichtet werden, zeigen unmittelbar eine negative geotropische Nachreaktion; die positive Vorphase fehlt hier. Bei *Avena*keimlingen erreicht die Krümmung nach scharfem Anstieg ihr Maximum stets nach 1 Std, wonach eine Rückbewegung eintritt (vgl. Abb. 3, *A*). Nach einer Expositionszeit von 10 min ist diese Rückreaktion noch schwach, doch bei längerer Reizdauer wird

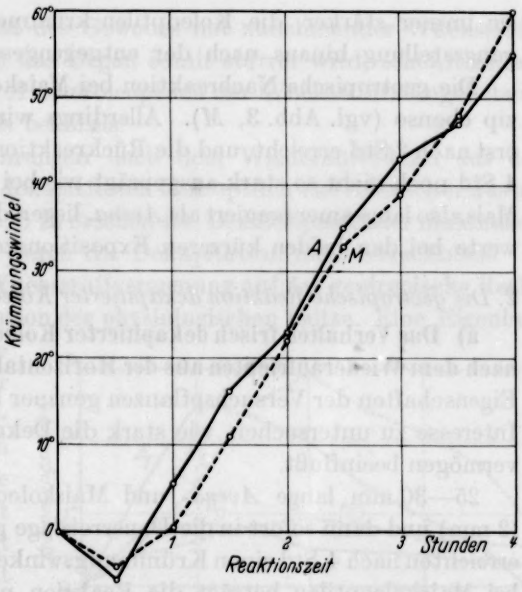

Abb. 2. Verlauf der geotropischen Reaktion bei intakten *Avena*- und Maiskoleoptilen in Dauerreizlage. *A Avena*, *M* Mais

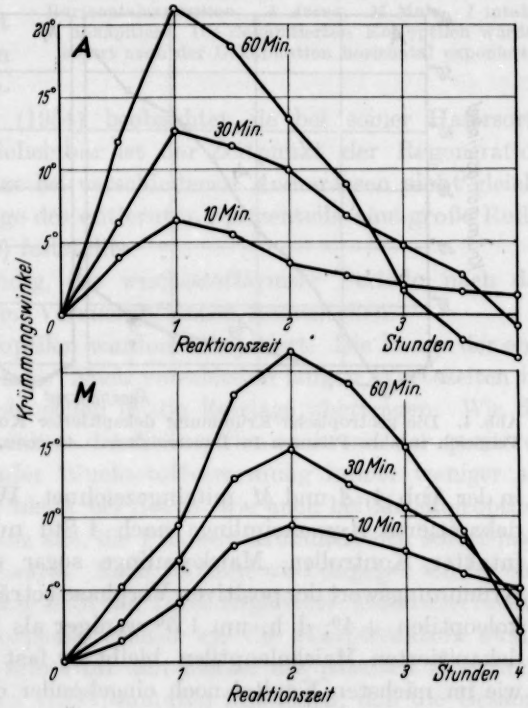

Abb. 3. Verlauf der geotropischen Nachkrümmung intakter Koleoptilen nach verschieden langen Expositionszeiten (10 min, 30 min, 60 min). Beginn der Messung vom Zeitpunkt der Vertikalstellung. *A Avena*, *M* Mais

sie immer stärker, die Koleoptilen krümmen sich dann über die Ausgangsstellung hinaus nach der entgegengesetzten Seite hin.

Die geotropische Nachreaktion bei Maiskoleoptilen verläuft im Prinzip ebenso (vgl. Abb. 3, *M*). Allerdings wird das Reaktionsmaximum erst nach 2 Std erreicht, und die Rückreaktion ist dementsprechend nach 4 Std noch nicht so stark ausgeprägt wie bei *Avena*koleoptilen. Obwohl Mais also langsamer reagiert als *Avena*, liegen die maximalen Krümmungswerte bei den beiden kürzeren Expositionszeiten dennoch etwas höher.

2. Die geotropische Reaktion dekapitierter Koleoptilen von Avena und Mais

a) Das Verhalten frisch dekapitierter Koleoptilen in Dauerreizlage und nach dem Wiederaufrichten aus der Horizontallage. Um die geotropischen Eigenschaften der Versuchspflanzen genauer kennenzulernen, war es von Interesse zu untersuchen, wie stark die Dekapitation ihr Reaktionsververmögen beeinflußt.

25—30 mm lange *Avena*- und Maiskoleoptilen wurden dekapitiert (2 mm) und dann sofort in die Dauerreizlage gebracht. *Avena*koleoptilen erreichten nach 4 Std einen Krümmungswinkel von 13,8° (vgl. Abb. 4, *A*), bei Maiskoleoptilen beträgt die Reaktion nach derselben Zeit nur 6° (vgl. Abb. 4, *M*). Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die Krümmungswerte intakter *Avena*- und Maiskoleoptilen in Dauerreizlage (s. Abb. 2)

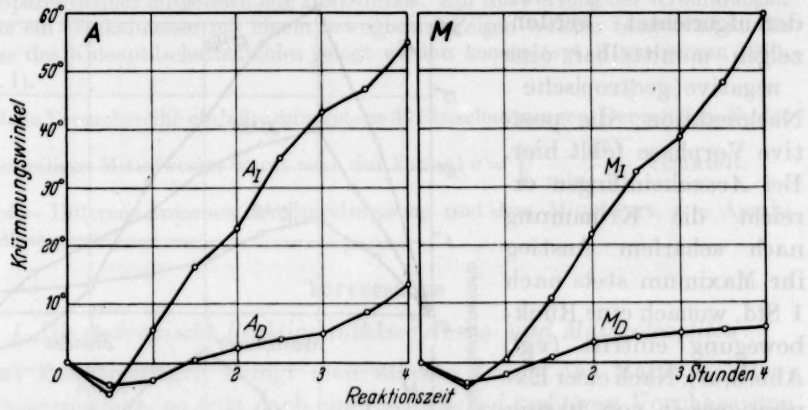

Abb. 4. Die geotropische Krümmung dekapitierter Koleoptilen in Dauerreizlage. Zum Vergleich intakte Pflanzen in Dauerreizlage. *A Avena*, *M* Mais, *I* intakt, *D* dekapitiert

in der Abb. 4, *A* und *M*, miteingezeichnet. Wie zu ersehen ist, erreichen dekapitierte *Avena*keimlinge nach 4 Std nur 25,1% der Krümmung intakter Kontrollen, Maiskeimlinge sogar nur 10%. Der maximale Krümmungswert der positiven Vorphase beträgt bei dekapitierten *Avena*koleoptilen +4°, d. h. um 1,5° weniger als bei intakten Pflanzen, bei dekapitierten Maiskoleoptilen bleibt er fast unverändert +3,9°. Da, wie im nächsten Kapitel noch eingehender dargelegt werden wird, bei

Koleoptilen die Plastizität des Gewebes mit zunehmender Wuchsstoffverarmung abnimmt und das Organ somit starrer wird, scheint es, als ob sich bei dekapitierten *Avena*koleoptilen der Wuchsstoffmangel etwas eher bemerkbar macht als bei Mais.

Auch die Nachkrümmungen nach dem Wiederaufrichten aus der Horizontallage fallen bei dekapitierten Koleoptilen viel schwächer aus als bei intakten, wie aus Abb. 5 zu ersehen ist. Der Zeitpunkt der maximalen Krümmung wird jedoch durch die Dekapitation nicht verschoben.

b) Die Wirkung der Wuchsstoffverarmung auf das geotropische Reaktionsvermögen. Regeneration der physiologischen Spitze. Eine Eigenheit der *Gramineen*keimlinge ist das Phänomen der Regeneration der physiologischen Spitze, wodurch der wuchsstoffverarmte Koleoptilstumpf erneut mit Wuchsstoff versorgt wird. Über den Zeitpunkt der Regeneration findet man in der Literatur unterschiedliche Angaben. Nach Went (1933) tritt sie bei *Avena*koleoptilen $2^1/_2$—3 Std nach der Dekapitation ein; Anker (1954) beobachtet sie bei seiner Hafersorte bereits nach $1^1/_2$ Std. Scheinbar ist der Zeitpunkt der Regeneration der physiologischen Spitze bei verschiedenen *Avena*rassen nicht gleich; außerdem spielt die Länge des entfernten Spitzenteils eine große Rolle, wie Tsi Tsung Li (1930) feststellte.

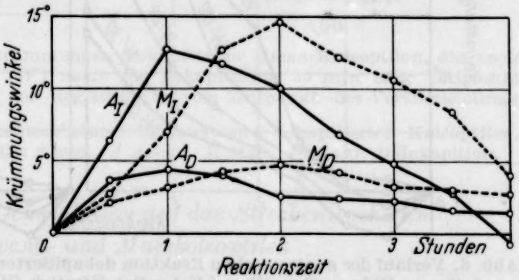

Abb. 5. Verlauf der geotropischen Nachkrümmung intakter und dekapitierter Koleoptilen nach 30 min Horizontalexposition. *A Avena*, *M* Mais, *I* intakt, *D* dekapitiert. Die dekapitierten Koleoptilen wurden sofort nach der Dekapitation horizontal exponiert

Es war nun notwendig, die wuchsstoffärmste Periode nach der Dekapitierung bei unseren Versuchspflanzen festzustellen.

Avena- und Maiskoleoptilen wurden dekapitiert. Die Länge der entfernten Spitze betrug 2 mm. Nach verschieden langen Wartezeiten im Dunkeln wurden die Koleoptilen in die Reizlage übertragen. Wie die Abb. 6 erkennen läßt, sinken die Koleoptilen während der positiven Vorphase bei zunehmender Wuchsstoffverarmung immer weniger ab. Nach 120 min Wartezeit bleibt bei *Avena*- wie auch bei Maiskoleoptilen die positive Vorphase ganz aus, die Pflanzen krümmen sich sofort nach dem Horizontallegen aufwärts. Nach 150 min wird dagegen wieder eine deutliche positive Vorphase sichtbar. Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß die positive Vorphase ebenso wie die Hauptreaktion auxinbedürftig ist. Dies gilt selbst für den Faktor des passiven Absinkens. Söding (1931) und Heyn (1931) konnten feststellen, daß die Gesamt-

dehnbarkeit und die Plastizität bei dekapitierten *Avena*koleoptilen mit zunehmender Wuchsstoffverarmung abnehmen; nach Regeneration der physiologischen Spitze steigen beide Größen wieder an.

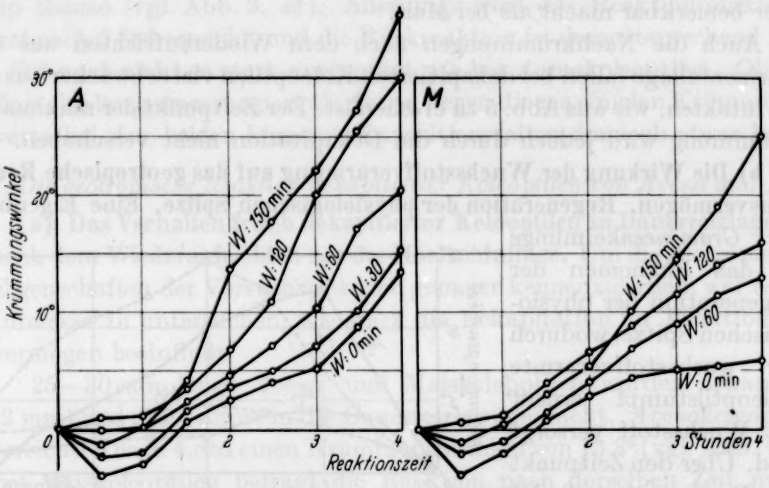

Abb. 6. Verlauf der geotropischen Reaktion dekapitierter Koleoptilen, die nach verschieden langen Wartezeiten (*W*) nach der Dekapitation in die Dauerreizlage gebracht worden waren. *A Avena*, *M* Mais

Nach dem Verlauf der positiven Vorphase zu schließen, beginnt unter unseren Versuchsbedingungen bei *Avena*- sowie auch bei Maiskoleoptilen die Regeneration der physiologischen Spitze 2—$2^1/_2$ Std nach der Dekapitation, die wuchsstoffärmste Zeit liegt bei 2 Std.

Als Ergänzung zu dem geschilderten Versuch wurde bei *Avena*koleoptilen auch der Einfluß der Wuchsstoffverarmung auf die geotropische Nachreaktion nach der Wiederaufrichtung untersucht. — Dekapitierte *Avena*koleoptilen — die Länge der entfernten Spitze betrug wieder 2 mm — wurden nach verschieden langen Wartezeiten in Vertikalstellung für 30 min horizontal gelegt. Nach Rückführung der Pflanzen in die Vertikalstellung wurden die nunmehr einsetzenden Nachkrümmungen gemessen (vgl. Abb. 7). Nach 90 min Wartezeit traten die schwächsten Reaktionen auf, nach 120 min nahm ihr Ausmaß wieder zu. Dieses Ergebnis stimmt mit dem des vorherigen Versuches gut überein, wenn man zu der Wartezeit in Vertikalstellung die 30 min Expositionszeit hinzuaddiert.

TSI TSUNG LI (1930) fand, daß die physiologische Spitze bei *Avena*koleoptilen nach 143 min regeneriert wird, wenn die Länge der entfernten Spitze 2 mm beträgt. Dies stimmt befriedigend mit dem oben gefundenen Versuchsergebnis überein.

Die folgenden Versuche dienen einer genaueren Bestimmung des Zeitpunkts der Regeneration.

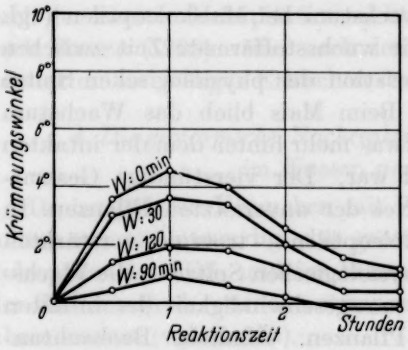

Abb. 7

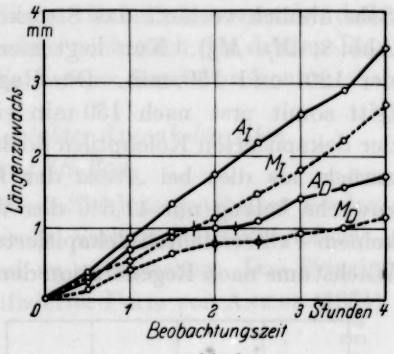

Abb. 8

Abb. 7. Die geotropischen Nachkrümmungen dekapitierter *Avena*-Koleoptilen, die nach verschieden langen Wartezeiten *(W)* nach der Dekapitation 30 min lang horizontal exponiert worden waren. Beginn der Registrierung vom Zeitpunkt der Vertikalstellung

Abb. 8. Der Verlauf des Streckenwachstums intakter und dekapitierter Koleoptilen. Länge des entfernten Spitzenteils: 2 mm. *A Avena*, *M* Mais, *I* intakt, *D* dekapitiert

3. Der Einfluß der Dekapitation auf das Streckenwachstum der Avena- und Maiskoleoptilen

Dekapitiert man eine Koleoptile, so sinkt das Streckenwachstum mit fortschreitender Wuchsstoffverarmung zunächst auf einen Minimalwert ab. Mit der allmählichen Regeneration der physiologischen Spitze steigt das Wachstum dann wieder an, da ein neues Wuchsstoffaktivierungszentrum entstanden ist. Durch Wachstumsmessungen kann man also die wuchsstoffärmste Zeit der Koleoptile und den genauen Zeitpunkt des Beginns der Regeneration ermitteln.

Zu diesem Zweck wurden möglichst gerade, 30 mm lange *Avena*- und Maiskoleoptilen dekapitiert. Die Länge der entfernten Spitze betrug 2 mm. Mit Horizontalmikroskopen (Objektivvergrößerung 2,5mal, Ocularvergrößerung 8mal) wurde alle 15 min der Längenzuwachs festgestellt. Ein Intervall der Ocularskala entsprach 18 μ. Der Nullpunkt der Skala wurde zu Anfang der Messung auf einen schwarzen Tuschepunkt eingestellt, der auf der Koleoptile 3 mm unterhalb der apikalen Schnittfläche aufgetragen war. Zum Vergleich wurde gleichzeitig auch das Wachstum intakter Pflanzen beobachtet.

Abb. 8 (A_I, A_D) zeigt, daß das Wachstum bei intakten *Avena*koleoptilen, abgesehen von kleinen Schwankungen, gleichmäßig verläuft. Der Zuwachs betrug nach 4 Std 3,5 mm. Bei dekapitierten *Avena*keimlingen ist der Zuwachs während der ersten 60 min noch wenig verändert, danach tritt aber eine deutliche Wachstumshemmung ein, die von der 105. bis zur 135. min andauert. Nach dieser Stillstandsperiode war ein Wiederanstieg des Wachstums festzustellen, der offenbar auf die Regeneration der physiologischen Spitze zurückzuführen ist. Der Gesamtzuwachs dekapitierter *Avena*koleoptilen während der vierstündigen Versuchsdauer betrug trotzdem nur 48,5% von dem intakter Pflanzen.

Sehr ähnlich verläuft das Streckenwachstum bei Maiskoleoptilen (vgl. Abb. 8, M_I, M_D). Nur liegt hier die wuchsstoffärmste Zeit zwischen der 120. und 150. min. Die Regeneration der physiologischen Spitze tritt somit erst nach 150 min ein. Beim Mais blieb das Wachstum der dekapitierten Koleoptilen noch etwas mehr hinter dem der intakten zurück, als dies bei *Avena* der Fall war. Der vierstündige Gesamtzuwachs betrug nur 41,5% des Wertes der unverletzten Pflanzen. In keinem Fall erreichten dekapitierte Koleoptilen — trotz des verstärkten Wachstums nach Regeneration der physiologischen Spitze — die Wachstumsgeschwindigkeit der intakten Pflanzen. Ähnliche Beobachtungen wurden schon früher gemacht. STARK (1917) führt dies darauf zurück, daß durch die Dekapitation die Hauptwachstumszone entfernt worden sei, während DU BUY und NUERNBERGK (1932) der Ansicht sind, daß die physiologische Spitze weniger Wuchsstoff produziert als die normale.

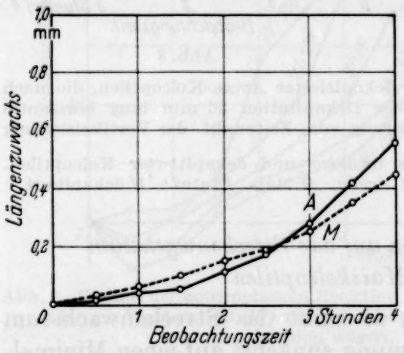

Abb. 9. Der Verlauf des Streckenwachstums zweifach dekapitierter Koleoptilen. Dekapitierte Koleoptilen (Länge des entfernten Spitzenteils 2 mm) wurden kurz vor Regeneration der physiologischen Spitze ein zweites Mal dekapitiert (1 mm). Die Messung begann unmittelbar nach der zweiten Dekapitation. *A Avena*, *M* Mais

Es war schließlich von Interesse, zur Ergänzung des oben geschilderten Versuchs das Streckenwachstum zweifach dekapitierter Koleoptilen zu messen. WENT und THIMANN (1937) und SÖDING (1952) geben an, daß ein *Gramineen*keimling, der kurz vor der Regeneration der physiologischen Spitze ein zweites Mal dekapitiert worden ist, praktisch kein Wachstum mehr aufweist.

Avena- und Maiskoleoptilen wurden 2 mm weit dekapitiert und dann die ersteren 130 min, die letzteren 145 min stehengelassen. Darauf erfolgte die zweite Dekapitation, wobei die Länge des entfernten Teils 1 mm betrug. — SÖDING (1929) hatte nämlich festgestellt, daß in der physiologischen Spitze der Hauptbildungsort der Wuchsstoffhormone innerhalb des obersten Millimeters liegt. — Der Längenzuwachs wurde wieder mit dem Horizontalmikroskop gemessen. Das Wachstum ist bei *Avena*koleoptilen während der ersten 90 min nach der zweiten Dekapitation sehr schwach, danach wird aber ein deutlicher Anstieg sichtbar (s. Abb. 9, *A*). Viel weniger deutlich und erheblich später tritt ein solcher Wachstumsanstieg bei Maiskoleoptilen auf (s. Abb. 9, *M*). Ob man hier von der Regeneration einer zweiten physiologischen Spitze sprechen kann, soll im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter erörtert werden. Diese Ergebnisse sollen vorläufig nur zeigen, daß das Wachstum

nach der zweiten Dekapitation nicht erlischt. Es sei hier vermerkt, daß auch BEYER (1928) weder nach der zweiten noch nach der dritten Dekapitation ein völliges Erlöschen des Wachstums feststellen konnte.

4. Die geotropische Nachreaktion intakter Avenakoleoptilen im Wasser- und im IES-Bad

Da in späteren Versuchen mit Wuchsstoffbädern gearbeitet werden sollte, war es notwendig, das geotropische Verhalten intakter *Avena*koleoptilen im IES- und im Wasserbad zu untersuchen. Das Prinzip der Bädermethode wurde in etwas modifizierter Form von ANKER (1954) übernommen (vgl. S. 559).

Zunächst war es notwendig festzustellen, ob eine Durchlüftung des Bades die Reaktion günstig beeinflußt. Nichtdekapitierte, von der Wurzel getrennte, 25—30 mm lange *Avena*koleoptilen wurden nach Entfernung des Primärblattes in der schon beschriebenen Weise in Glasröhrchen befestigt, die in Paraffinblöcken eingeschmolzen waren. Die Dauer der horizontalen Exposition unter Wasser betrug 30 min. Nach der Vertikalstellung kam eine Serie von Pflanzen in ein durchlüftetes, eine andere in ein nichtdurchlüftetes Wasserbad. Die Durchlüftung wurde durch eine Membranpumpe besorgt. Im nichtdurchlüfteten Bad entwickelten sich die Krümmungen der Koleoptilen, wie zu erwarten war, infolge des eintretenden Sauerstoffmangels merklich schwächer (s. Tabelle 1a). Die Differenz beträgt im Reaktionsmaximum 29%. Deshalb wurde bei sämtlichen weiteren Bäderversuchen durchlüftet.

Tabelle 1. *Die geotropische Nachreaktion nichtdekapitierter, an der Basis abgeschnittener Avenakoleoptilen:*

a) in einem durchlüfteten und in einem nichtdurchlüfteten H_2O-Bad, b) in Luft und in einem durchlüfteten H_2O-Bad, c) im IES-Bad (0,1 mg/Liter) und in einem durchlüfteten H_2O-Bad. Krümmungswerte in Winkelgraden.

		Reaktionszeit in Std					
		0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0
a)	Durchlüftet . . .	6,0	7,6	6,6	4,5	1,7	−0,5
	F_m	±0,7	±0,6	±0,7	±0,6	±0,5	±0,8
	Nichtdurchlüftet .	4,2	6,0	4,7	3,4	2,8	2,0
	F_m	±1,2	±0,6	±0,8	±0,7	±0,8	±0,8
b)	In Luft	7,6	9,2	7,2	3,0	−1,0	−2,5
	F_m	±0,7	±0,6	±0,9	±0,9	±0,4	±1,0
	In Wasser	6,4	8,0	6,6	4,2	0,4	−0,6
	F_m	±0,5	±0,5	±0,7	±0,6	±0,5	±0,9
c)	In IES	5,4	7,0	5,6	3,3	2,0	1,4
	F_m	±0,6	±0,7	±0,5	±1,0	±0,5	±0,8
	In H_2O	6,8	8,5	6,7	4,0	0,5	−1,0
	F_m	±0,5	±0,4	±0,8	±0,5	±0,9	±0,7

Als nächstes mußte geprüft werden, ob das Gewebe der Koleoptilen im Bad so stark turgescent wird, daß es an Biegsamkeit einbüßt. Dazu wurden nichtdekapitierte, von der Wurzel abgetrennte *Avena*koleoptilen, denen das Primärblatt entfernt worden war, für 30 min horizontal exponiert, die eine Serie in Luft, die andere im Wasserbad. Die Glasröhrchen, in denen die Koleoptilen der Luftserie steckten, waren mit genügend Wasser gefüllt, um ein Austrocknen der Pflanzen während der Versuchszeit zu verhindern. Nach der anschließenden Vertikalstellung blieben die Pflanzen der ersten Serie weiterhin in Luft, die der zweiten Serie im Wasserbad. Wie aus Tabelle 1 b ersichtlich ist, krümmten sich die Koleoptilen der Luftserie im Reaktionsmaximum um etwa 15% stärker als die der Wasserserie. Dieser Unterschied läßt sich zunächst darauf zurückführen, daß die Koleoptilen im Wasserbad ihren Turgor stark erhöhten und deshalb an Biegsamkeit verloren. Es ist bei diesem Versuch allerdings auch zu bedenken, daß die O_2-Versorgung selbst im durchlüfteten Wasserbad schlechter gewesen sein dürfte als in Luft.

Schließlich wurde das geotropische Verhalten nichtdekapitierter *Avena*koleoptilen in einem IES-Bad (0,1 mg/Liter) untersucht. Die Versuchspflanzen wurden nach einer halbstündigen Horziontalexposition im IES-Bad vertikal in diesem belassen; die Krümmungsreaktion wurde wieder vom Zeitpunkt der Vertikalstellung an gemessen. Als Kontrolle dienten Koleoptilen im auxinfreien Wasserbad. Das Maximum der Reaktion, das in beiden Fällen nach 1 Std erreicht wird, beträgt bei der IES-Serie 7°, bei den Kontrollen 8,5° (s. Tabelle 1 c). Auch die Rückreaktion entwickelt sich bei der IES-Serie schwächer. Die hemmende Wirkung des IES-Bades erklärt sich vermutlich dadurch, daß die allseitige Überschwemmung des Koleoptilgewebes mit Wuchsstoff die Querpolarisation seiner Verteilung beeinträchtigt, die bei der Auslösung der geotropischen Krümmung zweifellos eine entscheidende Rolle spielt.

Hauptversuche: Trennung von Induktion und Reaktion

1. Der Einfluß ungereizter Koleoptilspitzen auf das Reaktionsvermögen geotropisch induzierter Koleoptilstümpfe

Wie in der Einleitung erwähnt, hat BRAUNER bereits 1923 die Rolle der Koleoptilspitze bei der geotropischen Reaktion an *Avena*keimlingen untersucht (s. S. 558) und festgestellt, daß die Aufnahme des geotropischen Reizes auch ohne Wuchsstoff möglich ist. BRAUNER vertrat damals die Ansicht, daß es sich bei der Primärwirkung des geotropischen Reizes um eine Permeabilitätsveränderung des Diffusionsweges handelt, wodurch das Herabströmen des Auxins aus der Spitze asymmetrisch verändert wird.

Ausgehend von den neueren Erfahrungen über die Induktion des Geotropismus, schien es lohnend, den alten Versuch BRAUNERs zu wiederholen. Insbesondere schien es von Interesse, hierbei die oben geschilderten Meßergebnisse über die Verarmungszeit von Koleoptilen

mit heranzuziehen. *Avena*koleoptilen wurden dekapitiert, wobei die Länge der entfernten Spitze 2 mm betrug. Nach $1^1/_2$ Std Verarmungszeit im Dunkeln wurden die Koleoptilen für $^1/_2$ Std in die Horizontallage übertragen. Danach wurden die Versuchspflanzen wieder vertikal gestellt und ihnen 2 mm lange Spitzen anderer ungereizter *Avena*koleoptilen aufgesetzt, wobei darauf geachtet wurde, daß die Orientierung der neuen Spitzen der der ursprünglichen entsprach. Zur besseren Befestigung der Spitzen wurde auf den Koleoptilstumpf ein Tropfen Gelatine gegeben. Die Halter mit den so präparierten Pflänzchen kamen in eine große Glascuvette, in der die Luft mit Wasserdampf gesättigt gehalten wurde, um ein Austrocknen der zarten Spitzen zu verhüten. Die Glascuvette wurde so hinter den Bildschirm gestellt, daß auf diesem ein klares Schattenbild der Koleoptilen beobachtet werden konnte. Zur Kontrolle dienten Pflänzchen ohne wiederaufgesetzte Spitze, die sonst genauso vorbehandelt waren wie die Versuchspflanzen.

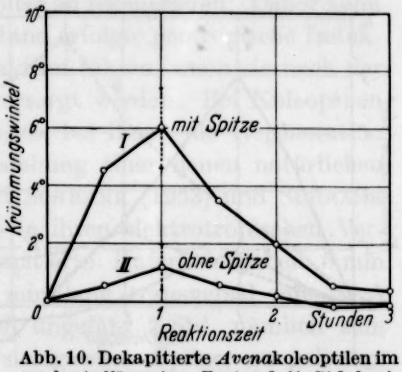

Abb. 10. Dekapitierte *Avena*koleoptilen im wuchsstoffärmsten Zustand $^1/_2$ Std horizontal exponiert. Nach Vertikalstellung ungereizte Spitzen anderer *Avena*keimlinge apikal aufgesetzt. Kurve *I*: Verlauf der Nachkrümmungen. Kontrolle (*II*): ebenso vorbehandelte Pflanzen ohne aufgesetzte Spitze. F_m für die Reaktionsmaxima miteingezeichnet

Die Versuchspflanzen erreichten im Maximum eine Krümmung von 6°, die Kontrollen ohne Spitze nur 1,2° (s. Abb. 10). Durch Aufsetzen der Koleoptilspitze auf den geotropisch induzierten Stumpf erreicht man aber nur ungefähr 50% der Krümmung von intakten Koleoptilen bei derselben Reizdauer (vgl. Abb. 3). In einer neuen Arbeit gelangen Brauner und Appel (1960) zur Auffassung, „daß bei der Haferkoleoptile die geotropische Polarisierung zu zwei grundsätzlich verschiedenen physiologischen Veränderungen führt: in der Spitzenzone zu einer transversalen Ablenkung des Wuchsstoffstromes, im basalen Teil dagegen zu einer Asymmetrie des Ansprechens auf allseitig zugeleitetes Auxin". In dem eben geschilderten Versuch wird durch das Abschneiden der Spitze der erste Faktor ausgeschaltet, es bleibt also nur noch der zweite Faktor wirksam. Daraus erklärt sich offenbar das schwächere Ausmaß der Krümmungen.

2. Die Wirkung von apikaler IES-Zufuhr aus Capillarröhrchen auf das Reaktionsvermögen dekapitierter geotropisch induzierter Avena- und Maiskoleoptilen

Brauner und Hager (1958) haben festgestellt, daß auch wuchsstofffreie Hypokotyle geotropisch induzierbar sind. Die Krümmungsreaktion

kann sich in solchen Hypokotylen jedoch erst dann entwickeln, wenn ihnen nach der Induktion apikal Wuchsstofflösung zugeführt wird. Es war nun interessant zu prüfen, ob sich mit der gleichen Methode in wuchsstoffarm induzierten Koleoptilen geotropische Nachkrümmungen auslösen lassen. Diese Nachprüfung war um so wichtiger, als DE WIT (1957) auf Grund seiner eigenen Versuche eine solche Möglichkeit bei Koleoptilen bezweifelte.

Zu diesem Zweck wurden 25—30 mm lange *Avena*- und Maiskoleoptilen 2 mm weit dekapitiert und sodann $1^1/_2$ Std zur Wuchsstoffverarmung im Dunkeln stehengelassen. Nach dieser Vorbehandlung wurden die Pflanzen horizontal gelegt. Die Expositionszeit für *Avena*koleoptilen betrug $^1/_2$ Std, für Maiskoleoptilen wurde sie auf 1 Std verlängert, da eine kürzere Reizdauer sich hier als zu wenig wirksam erwiesen hatte. Nach Vertikalstellung wurden nur die völlig gerade gebliebenen Keimlinge von der apikalen Schnittfläche her durch Capillarröhrchen mit IES-Lösung versorgt. Für *Avena*keimlinge war eine IES-Konzentration von 0,1 mg/Liter optimal, für Maiskoleoptilen eine solche von 1 mg/Liter. Als Kontrollen dienten ebenso vorbehandelte Koleoptilen, denen statt IES in gleicher Weise reines Wasser zugeführt wurde. Die Registrierung der Krümmung begann unmittelbar nach Vertikalstellung der Pflanzen.

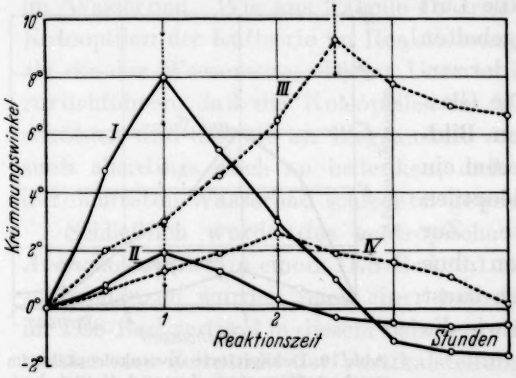

Abb. 11. Auslösung geotropischer Nachkrümmungen durch Zufuhr von synthetischer IES (vgl. Text). IES-Konzentrationen bei *Avena* 0,1 mg/Liter, bei Mais 1 mg/Liter. *I Avena* (IES), *II Avena* (H_2O), *III* Mais (IES), *IV* Mais (H_2O). F_m für die Reaktionsmaxima miteingezeichnet

Abb. 11 zeigt das Ergebnis. Aus dem Verlauf der Kurven ist zu ersehen, daß sich die geotropische Induzierbarkeit wuchsstoffarmer Koleoptilen auch nach dieser Methode nachweisen läßt. *Avena*koleoptilen erreichen 1 Std nach der IES-Zufuhr ein Krümmungsmaximum von 8°, auf das eine sehr starke Rückreaktion folgt. Bei Maiskoleoptilen wird das Maximum erst nach $2^1/_2$ Std mit 9,3° erreicht, die Rückreaktion ist hier nur schwach ausgeprägt. Die durch die Dekapitierung beeinträchtigte Krümmungsfähigkeit läßt sich allerdings auch bei Zufuhr optimaler IES-Mengen nicht voll wiederherstellen; eine mögliche Erklärung hierfür ist bereits im vorigen Kapitel gegeben worden.

Die Maximalkrümmung der Wasserkontrollen betrugen bei *Avena* 1,9°, bei Mais 2,6°. Diese Werte sind hier höher als bei Hypokotylen,

da bei Koleoptilen der wuchsstoffarme Zustand nur kurze Zeit andauert. Denn selbst bei der oben gewählten optimalen Versuchsanordnung setzt die Regeneration der physiologischen Spitze schon kurz nach der Vertikalstellung (bei *Avena*koleoptilen) oder direkt zum Zeitpunkt der Vertikalstellung (bei Maiskoleoptilen) ein.

3. *Auslösung der geotropischen Krümmung bei dekapitierten Koleoptilen durch die Regeneration der physiologischen Spitze*

*Helianthus*keimlingen geht bekanntlich die Fähigkeit ab, nach der Dekapitierung eine „physiologische" Spitze zu regenerieren. Daher kann bei ihnen eine im wuchsstoffarmen Zustand erfolgte geotropische Induktion nur dann zu einer Krümmungsreaktion führen, wenn sie nach der Induktion künstlich mit Wuchsstoff versorgt werden. Bei Koleoptilen liegen die Dinge grundsätzlich anders, da bei ihnen die Regeneration einer physiologischen Spitze zur Entstehung einer neuen natürlichen Wuchsstoffquelle führt. Webster und Schrank (1953) und Schrank (1957) nützten diese Situation bereits in ihren elektrotropischen Versuchen aus. Sie durchströmten dekapitierte Haferkoleoptilen 5 mm unter ihrer apikalen Schnittfläche 2 min lang transversal mit 20μA Gleichstrom. Es kam dann erst nach ungefähr 2 Std, nämlich zum Zeitpunkt der Regeneration der physiologischen Spitze, zu galvanotropischen Nachkrümmungen nach der Seite, die vorher mit dem positiven Pol in Verbindung gestanden hatte.

Es war nun von Interesse, zu untersuchen, ob man bei *Avena*- und Maiskoleoptilen auch einen vergleichbaren geotropischen Nacheffekt erzielen kann. Hierbei mußte darauf geachtet werden, daß die geotropische Induktion in der wuchsstoffärmsten Periode nach der Dekapitierung erfolgte. Um andererseits die Ergebnisse mit den geotropischen Nachkrümmungen dekapitierter, nach der Induktion mit synthetischer IES versorgter Koleoptilen vergleichen zu können (Röhrchenversuche, siehe S. 569), wurde bei *Avena*koleoptilen wieder eine Expositionszeit von 30 min und 60 min bei Maiskoleoptilen gewählt. Da bei dekapitierten *Avena*koleoptilen die Regeneration der physiologischen Spitze nach 135 min beginnt, die Rückführung der Pflanzen in die Vertikalstellung aber genau mit diesem Zeitpunkt zusammenfallen sollte, wurden die Koleoptilen nach der Dekapitation zur Wuchsstoffverarmung zunächst 105 min im Dunkeln vertikal stehengelassen. Dekapitierte Maiskoleoptilen blieben dementsprechend 90 min zur Wuchsstoffverarmung im Dunkeln stehen. Nach der geotropischen Induktion kamen die Pflanzen wieder in die Vertikallage, worauf ihre horizontale Spitzenabweichung alle 15 min mit dem Horizontalmikroskop (Objektivvergrößerung 2,5mal, Okularvergrößerung 8mal) gemessen wurde. Der Krümmungseffekt wurde erst in Millimeter, dann in Winkelgrade umgerechnet. Zur Kontrolle

dienten in gleicher Weise vorbehandelte *Avena*- und Maiskoleoptilen, die jedoch kurz vor Regeneration der physiologischen Spitze noch ein zweites Mal dekapitiert (1 mm) worden waren.

In Abb. 12 sind die Ergebnisse dieser Versuche dargestellt. Bei beiden Koleoptilarten kommt es zu Nachkrümmungen, die zwar schwächer sind als bei IES-Versorgung, aber mit dem Horizontalmikroskop immerhin gut registriert werden können. Die *Avena*koleoptilen erreichen ihr Reaktionsmaximum (3,5°) nach 90 min, wonach eine deutliche Rückreaktion eintritt. Bei den Maiskoleoptilen wird der stärkste Ausschlag (3°) erst zwischen der 150. und 180. min erreicht. Es tritt hier kein scharfer Gipfel auf wie bei *Avena*. Erst nach 180 min folgt eine leichte Rückreaktion. Ein Vergleich dieser Krümmungswerte mit denen der vorigen Reihe (vgl. Abb. 11) zeigt also, daß die Regeneration einer physiologischen Spitze beträchtlich schwächere geotropische Nachkrümmungen auslöst als die Zugabe von synthetischen Auxinlösungen aus Capillarröhrchen. Das liegt offenbar daran, daß die physiologische Spitze erheblich weniger Wuchsstoff produziert, ein Punkt, auf den bereits früher (s. S. 566) hingewiesen wurde. Die Krümmungswerte der zweimal dekapitierten Kontrollpflanzen sind in beiden Fällen sehr viel niedriger, sie lassen aber erkennen, daß auch nach der zweiten Dekapitation die Koleoptilen noch nicht ganz wuchsstofffrei sind.

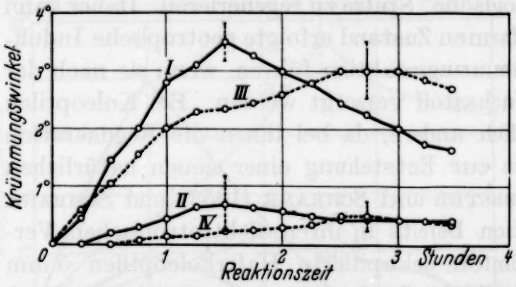

Abb. 12. Verlauf der geotropischen Nachkrümmung der *Avena*- und Maiskoleoptilen nach Exposition im wuchsstoffärmsten Zustand. *I Avena*, einmal dekapitiert; *II Avena*, zweimal dekapitiert; *III* Mais, einmal dekapitiert; *IV* Mais, zweimal dekapitiert. F_m für die Reaktionsmaxima miteingezeichnet

Trotz der erwähnten Schwierigkeiten läßt sich also auch mit dieser Versuchsmethode bei Koleoptilen die geotropische Perzeption von der Krümmungsreaktion zeitlich trennen. Die Methode hat allerdings den Nachteil, daß man zwischen Induktion und Auslösung der sichtbaren Krümmungsreaktion keine längeren Wartezeiten einschalten kann, da die Induktion im wuchsstoffärmsten Zustand der Koleoptilen stattfinden muß, der erst kurz vor der Regeneration der physiologischen Spitze eintritt.

4. Die Wirkung allseitiger Auxinzufuhr während und nach der Induktion auf die geotropische Nachreaktion dekapitierter Avenakoleoptilen

ANKER (1956) stellte fest, daß dekapitierte *Avena*koleoptilen, die sich während der geotropischen Induktion in Wuchsstofflösungen optimaler

Konzentration befinden, fast gleich stark reagieren wie nichtdekapitierte Koleoptilen in Wasser. Er schloß aus den Bedingungen seiner Versuche, daß die natürliche Wuchsstoffkonzentration in *Avena*koleoptilen ungefähr 0,075—0,1 mg/Liter betragen muß. Diese Ergebnisse waren von großem Interesse, da sie gegen die Beteiligung einer Querverschiebung von Wuchsstoff an der Reaktion zu sprechen schienen: denn in allseitig von Wuchsstofflösung umgebenen Koleoptilen sollte sich ja eine transversale Ablenkung der IES viel weniger auswirken als bei apikaler Zufuhr. Nach den Versuchsergebnissen von BRAUNER und APPEL (1960) scheint es aber ziemlich sicher zu sein, daß in der Koleoptilspitze eine Wuchsstoffquerverschiebung während der Induktion zwar tatsächlich stattfindet, daß diese jedoch nicht der alleinige verantwortliche Faktor für die Auslösung der geotropischen Reaktion sein kann. Hiervon war bereits auf S. 569 die Rede. Um diesen Widerspruch zu klären, wurde der Ankersche Versuch in abgewandelter Form wiederholt.

Zuvor sei kurz an dessen Grundprinzip erinnert: ANKER brachte dekapitierte Haferkoleoptilen im IES-Bad und zur Kontrolle nichtdekapitierte Koleoptilen im H_2O-Bad für 75 min in Horizontalstellung; während der Reizdauer hatte also die Regeneration der physiologischen Spitze noch nicht eingesetzt. Das Ausmaß der Reaktion wurde durch je eine Beobachtung vor und nach der Exposition ermittelt. Eine Messung dieser Art ergab also nur den Gesamtwert der Reaktion, sie ließ aber nicht ihren Verlauf erkennen.

Um auch diesen zu erfassen, wurde nun folgender Versuch durchgeführt:

*Avena*koleoptilen wurden von ihrer Basis abgeschnitten und 2 mm weit dekapitiert; das Primärblatt wurde entfernt. Nachdem die so präparierten Koleoptilen in die Glashalter eingesteckt worden waren (s. S. 559), verblieben sie zur Wuchsstoffverarmung $1^1/_2$ Std in Vertikalstellung im Wasserbad. Danach wurden sie in ein IES-Bad übertragen und in diesem 30 min lang horizontal exponiert. Als optimale IES-Konzentration erwies sich 0,1 mg/Liter. Nach Vertikalstellung der Koleoptilen in der gleichen IES-Lösung begann die Messung der geotropischen Krümmung. Da im Verlauf des Versuches mit der Regeneration einer physiologischen Spitze zu rechnen war, wurden zum Vergleich entsprechende Kontrollversuche mit dekapitierten und mit nichtdekapitierten Koleoptilen in einem H_2O-Bad vorgenommen.

Die Ergebnisse sind in Abb. 13 dargestellt. Die dekapitierten Kontrollpflanzen im H_2O-Bad krümmen sich nur schwach (1°). Im IES-Bad verläuft die geotropische Nachreaktion der dekapitierten *Avena*koleoptilen schwächer als bei nichtdekapitierten Keimlingen im H_2O-Bad. Die dekapitierten Koleoptilen erreichen erst nach $1^1/_2$ Std ihr Krümmungsmaximum (6°), worauf eine schwache Rückreaktion eintritt, während bei nichtdekapitierten Keimlingen der stärkste Ausschlag nach 1 Std (8°) auftritt und auch die Rückreaktion stark ausgeprägt ist. In keinem Einzelversuch der Serie erreichte die Krümmung dekapitierter Koleoptilen den Reaktionswert intakter Pflanzen, wie es in den Ankerschen Versuchen der Fall war. Die gefundenen Ergebnisse schließen

eine Wuchsstoffquerverschiebung nicht aus, sie deuten nur darauf hin, daß sich dieser Faktor infolge der Überschwemmung des Gewebes mit exogenem Auxin nur schwach auswirken kann. Die Krümmungen, die bei dekapitierten Koleoptilen unter den obigen Versuchsbedingungen im IES-Bad dennoch auftreten, erklären sich vermutlich durch den zweiten Effekt der geotropischen Induktion: die Reaktionsasymmetrie der Koleoptilbasis gegenüber allseitig zugeleitetem Auxin (vgl. S. 569). Die Tatsache, daß hier schwächere Krümmungen beobachtet wurden, als bei den nichtdekapitierten Koleoptilen, wird unter der Voraussetzung

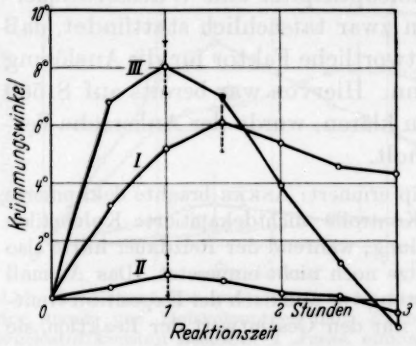

Abb. 13

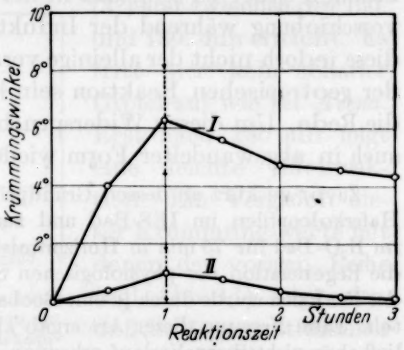

Abb. 14

Abb. 13. Geotropische Nachkrümmungen submerser, abgeschnittener *Avena*koleoptilen. *I* dekapitiert im IES-Bad; *II* dekapitiert im H_2O-Bad; *III* nichtdekapitiert im H_2O-Bad. F_m für die Reaktionsmaxima miteingezeichnet

Abb. 14. Geotropische Nachkrümmungen dekapitierter *Avena*koleoptilen nach $^1/_2$ Std Induktion im H_2O-Bad und darauffolgender Vertikalstellung im IES-Bad (*I*) bzw. in H_2O (*II*). F_m für die Reaktionsmaxima miteingezeichnet

verständlich, daß der volle geotropische Effekt nur durch das Zusammenwirken beider Faktoren erzielt werden kann.

Die eine der Primärwirkungen der geotropischen Induktion in der Koleoptile, die Querverschiebung des endogenen Wuchsstoffes in der Spitze, setzt voraus, daß dieser im Gewebe von vornherein vorhanden ist. Die andere Reaktion jedoch, die das Organ im basalen Teil physiologisch polarisiert, ist nicht an die Gegenwart von Wuchsstoff gebunden. Die beiden Faktoren können wahrscheinlich auch unabhängig voneinander wirken, worauf der oben beschriebene Versuch hindeutet; die Pflanzen sichern sich auf diese Weise also doppelt ab.

Die Röhrchenversuche (s. S. 569) haben gezeigt, daß bei vorinduzierten Koleoptilstümpfen die Krümmungsreaktion ausgelöst wird, wenn ihnen IES apikal zugeführt wird. Hier manifestiert sich also vor allem die physiologische Querpolarisierung des Organs. — Zur Ergänzung dieses Befundes war es interessant, zu prüfen, ob derselbe Effekt auch zu erzielen ist, wenn man den Koleoptilstümpfen IES allseitig zuführt.

DE WIT (1957), der dekapitierte *Avena*koleoptilen unter Wasser horizontal exponierte und dann vertikal in eine IES-Lösung übertrug, konnte dabei keine Nachkrümmungen feststellen. Hierdurch entstanden wieder ernste Zweifel an der Möglichkeit einer geotropischen Induktion bei Fehlen von Wuchsstoff. Der Versuch DE WITs wurde daher unter Berücksichtigung des Verlaufs der Wuchsstoffverarmung wiederholt.

Dekapitierte *Avena*koleoptilen wurden nach der gleichen Vorbereitung wie im vorherigen Versuch zuerst $1^1/_2$ Std in einem H_2O-Bad zur Wuchsstoffverarmung vertikal stehengelassen und danach im selben Bad 30 min lang horizontal exponiert. Nach Rückführung in die Vertikalstellung wurden die Pflanzen in ein IES-Bad (0,1 mg/Liter) übertragen und die Nachkrümmungen registriert. Als Kontrolle dienten ebenso vorbehandelte Pflanzen, die nach der geotropischen Induktion in Vertikalstellung im H_2O-Bad verblieben.

Wie aus Abb. 14 zu ersehen ist, führten die dekapitierten Koleoptilen im IES-Bad deutliche Krümmungen aus, die im Reaktionsmaximum 6,3° erreichten. Die folgende Rückbewegung ist viel weniger ausgeprägt als bei den früheren Versuchen. Die Kontrollpflanzen in Wasser krümmten sich dagegen nur sehr schwach (1°).

Dieses Ergebnis widerspricht den Erfahrungen von DE WIT. Es zeigt wieder, daß sich auch wuchsstoffarme Organe geotropisch induzieren lassen und ferner, daß sich diese Induktion auch bei allseitiger IES-Zufuhr tropistisch auswirkt.

Zu den Bäderversuchen muß noch bemerkt werden, daß sie unter möglichst einheitlichen Bedingungen durchgeführt werden müssen; zu achten ist vor allen Dingen auf die Wärmekonstanz der Bäder, da das Ausmaß der Krümmungsreaktion sehr temperaturabhängig ist.

5. Krümmungsauslösung durch Naphtylessigsäure und Indolylacetonitril

Zum Schluß und als Ergänzung zu den vorangegangenen Versuchen soll noch untersucht werden, ob auch gewebefremde Wuchsstoffe wie Naphtylessigsäure und potentielle Wuchsstoffvorstufen wie Indolylacetonitril in dekapitierten geotropisch induzierten Koleoptilen Nachkrümmungen auslösen können, oder ob diese Fähigkeit nur dem Heteroauxin zukommt. BRAUNER und HAGER (1958) fanden bei dekapitierten *Helianthus*hypokotylen folgende Reihenfolge der Aktivität der genannten drei Wirkstoffe: IES > NES > IAN, wobei IAN bereits fast unwirksam war. ANKER (1954) beobachtete hingegen, daß dekapitierte *Avena*koleoptilen im IAN-Bad ihr geotropisches Krümmungsvermögen in gleichem Maß wiedergewannen wie im IES-Bad. NES wirkte in seinem Versuch am schwächsten.

Um den Sachverhalt bei Koleoptilen mit unseren Versuchsmethoden zu überprüfen, wurden dekapitierte *Avena*- und Maiskoleoptilen, die, wie auf S. 570 beschrieben, vorbehandelt waren, horizontal exponiert, die ersteren $^1/_2$ Std, die letzteren 1 Std. Nach dem Wiederaufrichten

wurde den Koleoptilen aus Capillarröhrchen von der apikalen Schnittfläche her in einer Versuchsreihe NES, in einer zweiten IAN zugeführt. In Abb. 15 sind die Konzentrationen der Wirkstoffe angegeben, die sich in unseren Versuchen als optimal erwiesen haben.

Es fällt auf, daß die Werte für IAN im Vergleich mit denen für IES erstaunlich niedrig liegen. Diese Situation erklärt sich vermutlich aus der Tatsache, daß IES im wäßrigen Medium schwach dissoziiert, das Nitril dagegen nicht. Nun ist damit zu rechnen, daß das Plasma für Ionen weniger permeabel ist als für Moleküle (vgl. ANKER 1958). Als

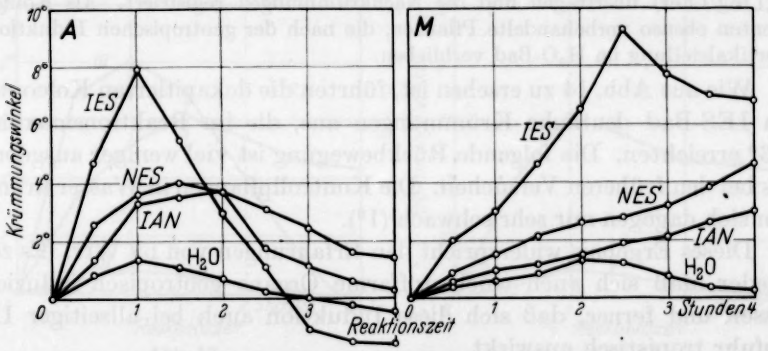

Abb. 15. Vergleich der geotropischen Nachkrümmungen, die durch Zufuhr von IES, NES, IAN und H_2O in dekapitierten *Avena*- und Maiskoleoptilen ausgelöst wurden. Verwendete Konzentrationen: *Avena*, IES 0,1 mg/Liter, NES 0,4 mg/Liter, IAN 0,017 mg je Liter; Mais, IES 1 mg/Liter, NES 4 mg/Liter, IAN 0,17 mg/Liter. F_m im Reaktionsmaximum: *A*: IES $\pm 1{,}6°$, NES $\pm 1{,}5°$, IAN $\pm 1{,}3°$, H_2O $\pm 0{,}8°$; *M*: IES $\pm 0{,}9°$, NES $\pm 0{,}8°$, IAN $\pm 0{,}6°$, H_2O $\pm 1{,}0°$

Kontrollen dienten wieder Koleoptilen, denen nach gleicher Vorbehandlung statt der genannten Wirkstoffe reines Wasser zugeführt wurde.

In Abb. 15 *A* sind die Resultate der *Avena*versuche dargestellt, in Abb. 15 *M* die der Maisversuche. Zum Vergleich ist in beiden Diagrammen wieder der Verlauf der durch IES ausgelösten Krümmungen (vgl. S. 570) mit eingezeichnet. Wie zu ersehen ist, gilt bei *Avena*koleoptilen die gleiche Reihenfolge der Wirksamkeit der drei Wirkstoffe IES > NES > IAN, wie sie von BRAUNER und HAGER (1958) bei *Helianthus*hypokotylen gefunden wurde. Allerdings ruft IAN bei Koleoptilen im Gegensatz zu den Hypokotylen noch eine deutliche Krümmung hervor. Augenfällig ist im Versuch mit *Avena*koleoptilen auch das verspätete Auftreten des Reaktionsmaximums bei den beiden weniger aktiven Wirkstoffen NES und IAN. Der gesamte Ablauf der Krümmungsreaktion erscheint jedoch bei den *Avena*koleoptilen nicht wesentlich verändert: nach dem Reaktionsmaximum tritt wieder eine Rückkrümmung ein, die ebenfalls ein geringeres Ausmaß erreicht als im IES-Versuch. Etwas anders verhalten sich die Maiskoleoptilen, wie aus

Abb. 15 *M* ersichtlich ist. Weder NES noch IAN rufen hier während der vierstündigen Beobachtungsdauer eine Rückbewegung hervor; der Gradient der Krümmung $\frac{d\alpha}{dt}$ (α = Krümmungswinkel, t = Zeit) verläuft innerhalb des Beobachtungszeitraums stets positiv.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß der geotropische Induktionsvorgang auch bei Koleoptilen nicht spezifisch auf Indolylessigsäure eingestellt ist. Die primär hervorgerufene physiologische Polarität führt auch bei Zufuhr gewebefremder Wuchsstoffe oder IES-Vorstufen, wenn auch in schwächerem Ausmaße, zur Entstehung einer geotropischen Krümmung.

Schlußbemerkungen

Die Ansicht von DE WIT (1957), daß die Induktion des geotropischen Reizes ohne Wuchsstoff nicht möglich ist, muß nach den geschilderten Versuchen wohl fallengelassen werden. Koleoptilen sind offenbar ebenso wie Hypokotyle (BRAUNER und HAGER 1958) befähigt, den geotropischen Reiz auch im weitgehend auxinverarmten Zustand aufzunehmen. Die Analyse der Verhältnisse bei Koleoptilen wird allerdings durch deren Vermögen, ihr Wuchsstoffaktivierungszentrum zu regenerieren, einigermaßen erschwert. Auch ist ein völlig wuchsstofffreier Zustand bei Koleoptilen durch Dekapitation nicht zu erreichen. Es konnte daher zunächst nur der wuchsstoffärmste Zustand bei *Avena* und *Zea mays* ermittelt werden: bei *Avena* tritt diese Phase zwischen der 105. und der 135. min, bei Maiskoleoptilen zwischen der 120. und der 150. min nach der Dekapitation ein. Die Dauer der geotropischen Induktion wurde so gewählt, daß sie möglichst in die oben genannten Zeiten fiel. Hier muß erwähnt werden, daß nach den Versuchsergebnissen von WENT (1942) in dekapitierten *Avena*koleoptilen selbst kurz vor Regeneration der physiologischen Spitze noch ungefähr 50% extrahierbaren Wuchsstoffes (freier und gebundener Wuchsstoff) vorhanden sein sollen, wobei das prozentuale Verhältnis vom verbleibenden freien und gebundenen Auxin allerdings nicht berücksichtigt wurde. Da außerdem nach den Erfahrungen des gleichen Autors nur das freibewegliche Auxin die geotropische Reaktion auslösen kann, und in unseren eigenen Versuchen die Nachkrümmungen der mit destilliertem H_2O versorgten Kontrollpflanzen (s. S. 570) stets wesentlich geringer ausfielen als die der Versuchspflanzen bei nachträglicher Zufuhr von IES (s. S. 570), so kann daraus geschlossen werden, daß der während der Induktion noch anwesende Wuchsstoff den Reaktionsablauf kaum mehr beeinflußt hat. Die kräftige Reaktion ist vielmehr dem Auxin zuzuschreiben, das den Pflanzen nach der Induktion apikal zugeleitet wurde. Dieses Resultat macht es unwahrscheinlich, daß die Schwerkraft in der Koleoptilbasis unmittelbar eine transversale Wuchsstoffverlagerung hervorruft. Die Möglichkeit einer Reizaufnahme in

Abwesenheit von Wuchsstoff deutet eher auf die Auswirkung einer von BRAUNER und HAGER (1958) erwogenen Grundreaktion, bei der nicht das Auxin, sondern ein anderer, auch im dekapitierten Organ noch vorhandener beweglicher Faktor im Schwerefeld transversal verlagert wird, der die Aktivität des gleichmäßig herabströmenden Auxins asymmetrisch verändert oder eine verschiedene Empfindlichkeit der opponierten Flanken des induzierten Organs gegenüber dem gleichmäßig herabströmenden Wuchsstoff hervorruft. Eine dritte Möglichkeit wäre die von UMRATH (1960) ausgesprochene Vermutung, daß sich in einem horizontal exponierten Organ auf der Oberseite Erregungssubstanzen ansammeln, die als Wuchsstoffantagonisten wirken.

Hier sei noch daran erinnert, daß der geotropische Induktionsvorgang bei Koleoptilen nicht spezifisch auf β-Indolylessigsäure eingestellt ist. Auch gewebefremde Wuchsstoffe oder IES-Vorstufen unterliegen der Wirkung der durch die geotropische Induktion hervorgerufenen physiologischen Polarität und vermögen dadurch, wenn auch in schwächerem Ausmaße, Nachkrümmungen auszulösen. Interessant ist die Beobachtung, daß IAN als mögliche IES-Vorstufe bei geotropisch induzierten Koleoptilstümpfen Krümmungen hervorrufen kann, während dies bei Hypokotylen nicht der Fall ist (BRAUNER u. HAGER 1958). Offenbar verfügen Koleoptilen über ein den Hypokotylen fehlendes Enzymsystem, das IAN in IES umwandeln kann. IAN scheint demnach in unveränderter Form als Wuchsstoff unwirksam zu sein (vgl. dazu LIBBERT u. BALLIN 1959 und MICHEL 1957, 1961).

Die vorliegende Untersuchung hat ferner gezeigt, daß durch apikale oder auch allseitige Versorgung dekapitierter, geotropisch gereizter Koleoptilen mit IES niemals eine volle Wiederherstellung der geotropischen Krümmungsfähigkeit erzielt werden konnte, obwohl mit optimalen Wuchsstoffkonzentrationen gearbeitet wurde. Bei dekapitierten *Avena*koleoptilen ließen sich im günstigsten Falle nur 63,5% der normalen Krümmungsfähigkeit intakter Pflanzen erzielen, bei Maiskoleoptilen sogar nur 43,2%. Auch die Beobachtung, daß dekapitierte *Avena*koleoptilen, in einem IES-Bad geotropisch induziert und dann in vertikaler Stellung in ihm belassen, sich schwächer krümmen als sonst gleich behandelte, nichtdekapitierte Pflanzen im H_2O-Bad, gibt zu denken. Es scheint also, daß die oben angeführten Möglichkeiten nicht ausreichen, um das Wesen der geotropischen Induktion in seiner Gesamtheit zu erklären. Die gefundenen Ergebnisse lassen sich erst dann verstehen, wenn man auch den Faktor der Auxinquerverschiebung mit berücksichtigt. In einer vor kurzem erschienenen Arbeit von BRAUNER und APPEL (1960) ist dieser Gedanke bereits geäußert worden. Hier werden Argumente dafür angeführt, daß in der intakten Koleoptile während der geotropischen Reizaufnahme zwei völlig verschiedene physiologische

Veränderungen vor sich gehen: eine transversale Ablenkung des Wuchsstoffstromes in der Spitzenzone, im basalen Teil dagegen ein Asymmetrischwerden des Reaktionsvermögen der Gegenflanken auf gleichmäßig herabströmendes Auxin.

Durch Dekapitation oder durch allseitige Wuchsstoffzufuhr im Auxinbad schaltet man den ersten Faktor mehr oder weniger aus, es bleibt dann also nur die Polarisierung des Auxineffekts wirksam. Dies würde das schwächere Ausmaß der Nachkrümmungen bei mit IES versorgten dekapitierten Pflanzen, verglichen mit denen intakter Koleoptilen, erklären. Die optimale Krümmungsfähigkeit kann offenbar erst dann erzielt werden, wenn beide Faktoren gleichzeitig wirken.

Von dieser Perspektive aus lassen sich manche Beobachtungen, die sich bisher scheinbar widersprachen, miteinander vereinbaren. So schließen sich die alten Angaben von Dolk (1936) und Dijkman (1934) über eine Querverschiebung von aktivem Auxin in horizontal exponierten Organen und die Beobachtungen von Botjes (1938) und von Brauner und Hager (1958), daß eine Perzeption des geotropischen Reizes auch in Abwesenheit von Wuchsstoff möglich ist, einander nicht mehr aus.

Allerdings läßt auch ein Kompromiß zwischen den bisher bestehenden Auffassungen noch manche Frage offen. So sind die Versuche von Reisener (1957) und Reisener und Simon (1960) mit markierter IES, die keinen meßbaren Unterschied in der Verteilung des Auxins in der Ober- und Unterflanke von geotropisch induzierten Koleoptilen erbracht haben, noch immer schwer verständlich. Eine Wiederholung dieser Versuche unter Berücksichtigung aller Fehlerquellen erscheint für die weitere Klärung des Problems der geotropischen Reizaufnahme besonders wichtig.

Zusammenfassung

1. In der vorliegenden Arbeit wird die Rolle des Wuchsstoffs bei der geotropischen Induktion an Koleoptilen untersucht. Als Versuchsobjekte dienten 3—4 Tage alte Keimlinge von *Avena sativa* und von *Zea mays*.

2. Um den Einfluß der Regeneration einer physiologischen Spitze nach der Dekapitation kennenzulernen, wurde in Vorversuchen das geotropische Verhalten intakter und dekapitierter Koleoptilen während längerer Beobachtungszeiten verglichen.

3. Bei den Koleoptilen von Mais entwickelt sich die geotropische Reaktion langsamer als bei denen von *Avena*. Bei beiden Pflanzen beginnt die Bewegung mit einem vorübergehenden Absinken der Koleoptilen (positive Vorphase).

4. Werden intakte Koleoptilen nach 10—60 min Horizontalexposition wieder vertikal gestellt, so entwickelt sich eine geotropische Nachkrümmung, bei der die positive Vorphase fehlt.

5. Dekapitierte *Avena*koleoptilen reagieren in Dauerreizlage zunächst sehr schwach. Nach etwa 3 Std verstärkt sich jedoch die Aufkrümmung in auffälliger Weise. Diese Wiederaufnahme der Bewegung hängt offenbar mit der unterdessen erfolgten Regeneration der physiologischen Spitze zusammen.

6. Aus Messungen des Längenwachstums geht hervor, daß die wuchsstoffärmste Phase bei *Avena*- und bei Maiskoleoptilen etwa 2 Std nach Entfernung von 2 mm der Spitze erreicht wird. Bei *Avena*koleoptilen setzt die Regeneration einer physiologischen Spitze 135 min, bei Maiskoleoptilen 150 min nach der Dekapitation ein.

7. Auch eine zweite Dekapitierung hebt bei *Avena*- und bei Maiskoleoptilen das Streckungswachstum nicht vollkommen auf.

8. Dekapitierte *Avena*- und Maiskoleoptilen besitzen noch die Fähigkeit, den geotropischen Reiz zu perzipieren. Zu einer Krümmungsreaktion kommt es jedoch erst bei nachträglicher Wuchsstoffzufuhr: Werden dekapitierte Koleoptilen kurzfristig geotropisch induziert und sodann wieder vertikal gestellt, so läßt sich durch Aufsetzen einer ungereizten Spitze eine Nachkrümmung auslösen, die etwa 50% der von intakten Koleoptilen erreicht. — Die gleiche Nachkrümmung wird auch durch Zufuhr von 0,1 mg/Liter IES-Lösung aus apikal aufgesetzten Capillarröhrchen hervorgerufen.

9. Ein entsprechender Effekt läßt sich an dekapitierten Koleoptilen auch hervorrufen, wenn man sie in einem Wasserbad horizontal exponiert und sodann in Vertikalstellung in ein IES-Bad (0,1 mg/Liter) überträgt.

10. Werden dekapitierte *Avena*- und Maiskoleoptilen im wuchsstoffärmsten Zustand geotropisch induziert und zum Zeitpunkt des Einsetzens der Regeneration der physiologischen Spitze vertikal gestellt, so treten ebenfalls Nachkrümmungen auf.

11. Die durch die geotropische Reizung hervorgerufene physiologische Polarisierung der Koleoptilen ist nicht spezifisch auf β-Indolylessigsäure eingestellt. Auch Indolylacetonitril und selbst der gewebefremde Wuchsstoff Naphtylessigsäure können im induzierten Organ eindeutige Nachkrümmungen auslösen.

12. Dekapitierte *Avena*koleoptilen, die in einem Auxin-Bad (0,1 mg je Liter IES) horizontal exponiert und sodann im gleichen Bad in die Vertikalstellung zurückgebracht werden, führen stets schwächere Nachkrümmungen aus als intakte Pflanzen bei gleicher Behandlung im Wasserbad. Dies bestätigt frühere Erfahrungen, nach denen die Koleoptilspitze nicht nur als Auxinversorgungszentrum wirkt, sondern auch als Perzeptionsorgan, dessen Empfindlichkeit größer ist als die der Basis.

Für die Überlassung des Themas sowie für die freundlichen Ratschläge bei der Durchführung dieser Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. LEO BRAUNER herzlich danken.

Literatur

ANKER, L.: A comparative study on the recovery of the geotropic response of decapitated *Avena* coleoptiles by indoleacetic acid, indoleacetonitrile and naphtylacetic acid. Proc. kon. ned. Acad. Wet. **57**, 304—316 (1954).

— The auxin concentration rule for the geotropism of *Avena* coleoptiles. Acta bot. neerl. **5**, 335—341 (1956).

— The influence of the pH on the growth and the geotropisms of decapitated *Avena* coleoptiles supplied either with indoleacetic acid or with indoleacetonitrile. Acta bot. neerl. **7**, 69—76 (1958).

BEYER, A.: Beiträge zum Problem der Reizleitung. Z. Bot. **20**, 321—417 (1928).

BOTJES, J. O.: Induction of polarity by geotropical stimulation in tomato plants lacking growth substance owing to being kept in the dark. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **41** (2), 161—166 (1938).

BRAUNER, L.: Über den Einfluß der Koleoptilspitze auf die geotropische Reaktion der *Avena*keimlinge. Ber. dtsch. bot. Ges. **41**, 208—211 (1923).

—, u. E. APPEL: Zum Problem der Wuchsstoff-Querverschiebung bei der geotropischen Induktion. Planta (Berl.) **55**, 226—234 (1960).

—, u. A. HAGER: Versuche zur Analyse der geotropischen Perzeption. I. Planta (Berl.) **51**, 115—147 (1958).

—, u. Y. VARDAR: Über die Funktion der Lamina bei der phototropischen und geotropischen Reaktion des *Tropaeolum*-Blattes. Rev. Fac. Sci Univ. Istanbul B **15**, 269—299 (1950).

—, u. A. ZIPPERER: Über die Anfangsphasen der geotropischen Krümmungsbewegung von *Avena*-Koleoptilen. Planta (Berl.) **57**, 503—517 (1961).

BÜNNING, E., H. J. REISENER, F. WEYGAND, H. SIMON u. J. F. KLEBE: Versuche mit radioaktiver Indolylessigsäure zur Prüfung der sogenannten Ablenkung des Wuchshormonstromes durch Licht. Z. Naturforsch. **11** b, 363—364 (1956).

BUY DU, H. G., u. E. NUERNBERGK: Phototropismus und Wachstum der Pflanzen. Ergebn. Biol. **9**, 358—544 (1932).

CHING, T. M., and S. C. FANG: The redistribution of radioactivity in geotropically stimulated plants pretreated with radioactive indole-acetic acid. Physiol. Plantarum (Cph.) **11**, 722—727 (1958).

CHOLODNY, N.: Wuchshormone und Tropismen bei den Pflanzen. Biol. Zbl. **47**, 604—626 (1927).

DIJKMAN, M. J.: Wuchsstoff und geotropische Krümmung bei *Lupinus*. Rec. Trav. bot. néerl. **31**, 391—450 (1934).

DOLK, H. E.: Geotropie en Groeistof. Diss. Utrecht 1930. S. 1—129.

— Geotropism and the growth substance. Rec. Trav. bot. néerl. **33**, 509—585 (1936).

GORDON, S. A., and M. EIB: Auxin transport in the phototropic response. Plant Physiol. **31**, Suppl. XIV (1956).

HEYN, A. N. J.: Der Mechanismus der Zellstreckung. Rec. Trav. bot. néerl. **28**, 113—244 (1931).

LAAN, P. A. VAN DER: Der Einfluß von Aethylen auf die Wuchsstoffbildung bei *Avena* und *Vicia*. Rec. Trav. bot. néerl. **31**, 691—742 (1934).

LI, TSI TSUNG: The appearance of the new physiological tip of the decapitated coleoptiles of *Avena sativa*. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **33**, 1201—1205 (1930).

LIBBERT, E., u. G. BALLIN: Vorkommen, Wirksamkeit und fermentative Umsetzung des Indol-3-acetonitrils in verschiedenen Pflanzen. Naturwissenschaften **46**, 532—533 (1959).

MICHEL, B. E.: Growth responses of crucifers to indoleacetic acid and indoleacetonitrile. Plant Physiol. **32**, 632—639 (1957).

— Further studies of synergism in slit pea test. Plant Physiol. **36**, 92—98 (1961).

NAVEZ, A. E., and T. W. ROBINSON: Geotropic curvature of *Avena* coleoptiles. J. gen. Physiol. **16**, 133—145 (1933).

REISENER, H. J.: Versuche zum Geotropismus mit radioaktiver β-Indolylessigsäure. Naturwissenschaften **44**, 120 (1957).

—, u. H. SIMON: Weitere Geotropismus-Versuche mit radioaktiver β-Indolylessigsäure (IES-2-C^{14}). Z. Bot. **48**, 66—70 (1960).

SCHRANK, A. R.: Bioelectrical implications in plant tropisms. Symp. Soc. exp. Biol. **11**, 95—117 (1957).

SÖDING, H.: Weitere Untersuchungen über die Wuchshormone der Haferkoleoptile. Jb. wiss. Bot. **71**, 184—213 (1929).

— Wachstum und Wanddehnbarkeit bei der Haferkoleoptile. Jb. wiss. Bot. **74**, 127—151 (1931).

— Wuchsstofflehre. Hannover 1952.

STARK, P.: Beiträge zur Kenntnis des Traumatotropismus. Jb. wiss. Bot. **57**, 461—552 (1917).

UMRATH, K.: Über die Rolle der Erregersubstanz beim Geotropismus der Sprosse. Ber. dtsch. bot. Ges. **73**, 380—385 (1960).

WEBSTER jr., W. W., and A. R. SCHRANK: Electrical induction of lateral transport of 3-Indoleacetic acid in the *Avena* coleoptile. Arch. Biochem. **47**, 107—118 (1953).

WENT, F. A. F. C.: Die Bedeutung des Wuchsstoffes (Auxin) für Wachstum, photo- und geotropische Krümmungen. Naturwissenschaften **21**, 1—7 (1933).

WENT, F. W.: On growth-accelerating substances in the coleoptile of *Avena* sativa. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **30**, 10—19 (1927).

— Growth, auxin and tropisms in decapitated *Avena* coleoptiles. Plant Physiol. **17**, 236—249 (1942).

—, and K. V. THIMANN: Phytohormones. New York (1937).

WIT, J. L. DE: Growth-substance relations in the *Avena* coleoptile, studied by means of the geotropic response. Acta bot. néerl. **6**, 1—45 (1957).

ZINSMEISTER, H. D.: Das phototropische Verhalten der Blütenstiele von *Cyclamen persicum Hybr.* Planta (Berl.) **55**, 647—668 (1960).

Dr. INGEBORG HAHNE,
Poing bei München, Schulstr. 33

Planta 57, 583—607 (1961)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Bonn

ÜBER DIE FEINSTRUKTUR DES PHLOEMS VON *METASEQUOIA GLYPTOSTROBOIDES* UND SEINE JAHRESZEITLICHEN VERÄNDERUNGEN

I. Mitteilung

DAS RUHEPHLOEM

Von

RAINER KOLLMANN und WALTER SCHUMACHER*

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 28. September 1961)

A. Einleitung

Die sich immer mehr durchsetzende und von SCHUMACHER schon vor über 30 Jahren geäußerte Überzeugung, daß die genaue anatomische und besonders cytologische Kenntnis der Leitungsbahnen die Voraussetzung für eine Lösung der Mechanik des Stofftransportes bilden dürfte, hat in den letzten Jahren dazu geführt, daß auch das Elektronenmikroskop mit seinen so viel größeren Möglichkeiten für die Analyse der Feinstrukturen herangezogen wurde (BEER 1959, SCHUMACHER und KOLLMANN 1959, BUVAT 1960, HEPTON and PRESTON 1960, HOHL 1960, KOLLMANN 1960b, ZIEGLER 1960). Ausgehend von den bekannten Objekten der Lichtmikroskopie wurden jedoch bisher nur angiosperme Pflanzen untersucht, die bekanntlich einer artefaktfreien Fixierung und Präparation ihrer Siebröhren sehr große Schwierigkeiten entgegensetzen, weshalb die Ergebnisse auch meist noch wenig befriedigend waren.

Wir haben uns nun dem Studium des Phloems von Coniferen zugewendet, wo der zweite von uns schon früher bei Plasmolyseversuchen sehr eigenartige Erscheinungen beobachtete, die eine besondere Struktur des Plasmas vermuten ließen. Die plasmodesmenähnlichen engen Siebporen in den Siebfeldern der Siebzellen schienen uns überdies die Aussicht zu bieten, daß artefizielle Störungen bei der Präparation vielleicht nicht so tiefgreifend wie bei den Angiospermen sein würden. Schließlich verlockte uns auch die Tatsache, daß bei den Coniferen die Leitelemente der Siebzellen keine Geleitzellen besitzen, denen in der letzten Zeit nur

* Der Zweitgenannte dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft, daß sie ihm nicht nur die elektronenoptische Ausrüstung zur Verfügung stellte, sondern auch die Mitarbeit des ersten Autors ermöglichte, ohne dessen besonderen Einsatz die Arbeiten nicht durchführbar gewesen wären.

Unserer technischen Assistentin, Fräulein CHRISTA GRABERT, danken wir für ihre selbständige, zuverlässige Mitarbeit.

allzu unbekümmert eine Funktion beim Stofftransport zugeschrieben wurde.

Aus diesen Gründen haben wir es unternommen, das Phloem unseres Objektes elektronenoptisch zu studieren, und zwar in regelmäßigen Abständen während einer ganzen Vegetationsperiode, da wir hofften, eventuell Zusammenhänge zwischen dem jahreszeitlich bedingten Funktionswechsel und einem plasmatischen Strukturwechsel aufdecken zu können, die Rückschlüsse auch auf den Mechanismus des Stofftransportes ermöglichen sollten. Die sehr umfangreichen und mühevollen Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen. Ihre bisherigen Ergebnisse, über die der eine von uns bereits an anderer Stelle kurz berichtet hat (KOLLMANN 1961a und b) rechtfertigen es aber schon jetzt, in einer Folge von Tatsachenbefunden bekannt gemacht zu werden. Die abschließende Stellungnahme behalten wir uns bis zum Ende der Untersuchung vor.

B. Material und Methode

1. Das Objekt

Die grundlegenden Kenntnisse vom Bau des Coniferen-Phloems verdankt man den sorgfältigen Untersuchungen von RUSSOW (1882), STRASBURGER (1891) und HILL (1901). ESAU (1953) hat die Ergebnisse späterer Forscher [z. B. ABBE und CRAFTS (1939), HUBER (1939) u. a.] zusammenfassend dargestellt. Nach eigenen eingehenden Prüfungen einer Anzahl von Species aus verschiedenen Coniferengruppen erwies sich schließlich *Metasequoia glyptostroboides* als ein für unsere Untersuchungen besonders günstiges Objekt. Als einer der wenigen Nadelbäume mit ausgeprägter Vegetationsperiode wirft *Metasequoia* in jedem Herbst ihre beblätterten Kurztriebe ab. Es waren demnach hier größere Unterschiede zwischen dem Phloem der leitungsaktiven Phase bei der voll belaubten Pflanze und dem sog. Ruhephloem im Winter zu erwarten. Vergleichbare Verhältnisse haben bereits ESAU (1948) zu ihren Phloemstudien an der Angiosperme *Vitis vinifera*, deren Siebröhren den Winter überdauern, veranlaßt. Als Taxodiacee verfügt *Metasequoia* über einen auffallend regelmäßigen Phloem-Bau, wie er bei anderen Arten wiederholt beschrieben wurde (STRASBURGER 1891, HUBER 1939, ESAU 1953 u. a.): Siebzellen — Parenchymzellen — Siebzellen — Bastfasern usw. wechseln in erstaunlich sicherer Regelmäßigkeit in einzellreihigen, tangentialen Bändern miteinander ab. Abgesehen davon, daß man auf radialen Schnitten durch das Phloem die fortschreitende Differenzierung der einzelnen Phloemelemente vom Cambium ausgehend besonders gut verfolgen konnte, war dieser überaus regelmäßige Phloembau vor allem geeignet, selbst auf kleinen Schnittflächen im Elektronenmikroskop die verschiedenen Phloemelemente eindeutig zu identifizieren, was sonst große Schwierigkeiten bereitet.

2. *Methodik*

Für die Ruhephloem-Untersuchungen wurde im Januar 1961 in nachfolgender Weise präpariert und fixiert:

In $1^1/_2$—2 m Höhe vom Erdboden wurden an einer 10 Jahre alten *Metasequoia glyptostroboides* im Freiland des Bonner Botanischen Gartens Zweige entnommen, die sich im dritten Entwicklungsjahr befanden. Diese wurden sofort unter gepufferter Saccharose-Lösung (0,25 m Saccharose + 0,006 m KH_2PO_4 + 0,004 m K_2HPO_4) mit einem scharfen Skalpell in 1 cm lange Segmente zerlegt. Nach vorsichtigem Abtragen der äußeren Kork- und Parenchymschichten mit einem Rasiermesser wurden möglichst anschließend ebenfalls unter Saccharose-Lösung etwa 2 mm breite und bis zu 10 mm lange Rindenstreifen an der cambialen Schicht vom übrigen Holzkörper abgezogen und sofort in das eiskalte Fixiergemisch übertragen, wobei zum eventuell besseren Eindringen der Fixierlösung die Präparate 1—2 min mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe infiltriert wurden.

Die Fixierung erfolgte nach einer bereits bei der Angiosperme *Passiflora coerulea* erprobten Methode in mit $K_2Cr_2O_7$ und NaCl versetzter OsO_4-Lösung (Kollmann 1960b, s. „Material und Methode" Fixierlösung I).

Nach dreistündiger Fixierung bei 0° bis + 3°C wurden von den Rindenstreifen in Tyrodelösung radiale Handschnitte angefertigt. Diese Präparation erfolgte im Zeitraum von 60 min.

Als Einbettungsmittel diente Vestopal W (vgl. Schnepf 1960 und Wohlfarth-Bottermann 1960) nach vorsichtigem Entwässern in Aceton über folgende Stufen: 30% Aceton (90 min) → 50% Aceton (90 min) → 75% Aceton + 1% Phosphorwolframsäure + 0,5% Uranylacetat (90 min) → 90% Aceton (90 min) → Aceton p. a. wasserfrei, über $CuSO_4$ getrocknet (90 min) → 3 Teile Aceton + 1 Teil Vestopal W ohne Polymerisationszusätze (12 Std) → 1 Teil Aceton + 1 Teil Vestopal W (6 Std) → 1 Teil Aceton + 3 Teile Vestopal W (6 Std) → reines Vestopal W ohne Polymerisationszusätze (4 Std) → Vestopal W + 1% Initiator + 0,5% Aktivator (10 Std).

Vor der anschließenden Polymerisation wurden die Schnitte nach genauer lichtmikroskopischer Kontrolle in 1 mm lange Stückchen zerlegt, wobei vor allem der Wundrand verworfen wurde. Die Polymerisation erfolgte in Gelatinekapseln über 24 Std bei 60°C im Thermostaten.

Zum Ultramikrotomieren auf einem Porter-Blum-Gerät wurden nur Zellen verwandt, die nach einem für Metacrylat-Präparate bereits beschriebenen, vergleichbaren Zielpräparationsverfahren (Kollmann 1960b) vorher ausgelesen waren: Die eingebetteten radialen Handschnitte können nämlich in Zimtöl, das einen annähernd gleichen Brechungsindex wie Vestopal besitzt, unter einem Lichtmikroskop derart gut beobachtet werden, daß eine genaue Lokalisation und somit Altersbestimmung der im Elektronenmikroskop zu untersuchenden Zellen vorher möglich ist (Abb. 1).

Für die elektronenoptischen Untersuchungen stand ein Akashi-Elektronenmikroskop (Tronscope Modell TRS 50) zur Verfügung.

C. Ergebnisse

1. *Lichtmikroskopische Voruntersuchungen*

Phloem-Untersuchungen im Elektronenmikroskop wurden bisher hauptsächlich auf die eigentlichen Leitelemente, die Siebröhren, beschränkt. Nur von Hohl (1960) wurden auch gleichzeitig Cambiumzellen und Geleitzellen bei *Datura stramonium* beschrieben. Die Befunde

über den Feinbau der Geleitzellen decken sich dabei im wesentlichen mit unseren Beobachtungen (KOLLMANN 1960b) bei *Passiflora coerulea*. Unsere vorliegenden Untersuchungen beziehen sich jedoch auf das gesamte Phloem von *Metasequoia glyptostroboides*. Wir werden zeigen, daß die gewisse Sonderstellung des Siebzellen-Cytoplasmas den Vergleich mit den benachbarten Parenchymzellen und Markstrahlzellen sowie denen des Cambiums geradezu verlangt.

Absichtlich haben wir dabei das Ruhephloem an den Anfang unserer Untersuchungen gestellt. Konnten doch CURRIER, ESAU und CHEADLE (1955) lichtmikroskopisch zeigen, daß die im Sommer so empfindlichen Protoplasten der mehrjährigen Siebelemente bei *Vitis vinifera* im Winter stabiler werden und hierbei eher dem Protoplasma normaler Parenchymzellen gleichen. Auch unsere eigenen Untersuchungen über das Ruhephloem bei *Passiflora coerulea* (KOLLMANN 1960a) konnten diese Ergebnisse vollauf bestätigen.

So durfte erwartet werden, daß sich auch das relativ dichtere Siebröhrenplasma des Ruhephloems von Metasequoia vor allem durch erhöhte Stabilität gegenüber Präparationseinwirkungen auszeichnen würde.

Die lichtmikroskopischen Phloem-Untersuchungen bei Coniferen im Winter haben bei STRASBURGER (1891) sowie ABBE und CRAFTS (1939) ergeben, daß bei den meisten Nadelhölzern, speziell bei *Pinus strobus*, ein breites Band von Siebelementen mit verschiedenen intermediären Entwicklungsstadien der einzelnen Zellen anzutreffen ist. Auch HUBER (1939) konnte an Hand seiner umfangreichen Phloemstudien beobachten, daß bei den immergrünen Abietaceen ein breites Siebzellenband über den Winter funktionstüchtig bleibt. Derselbe Autor beschreibt dagegen für die sommergrüne Lärche nur höchstens eine, den Winter überdauernde Siebzellenreihe im unmittelbaren Anschluß an das Cambium.

Unsere eigenen Untersuchungen haben Anfang Januar 1961 für *Metasequoia* lichtmikroskopisch zunächst folgendes Bild von Radialschnitten durch das Phloem ergeben (vgl. auch Abb. 1): Im Anschluß an die bereits lignifizierten Spätholzelemente (Anilinsulfat-Reaktion!) befindet sich eine 1 bis höchstens 2 Zellreihen breite Cambiumschicht. Dieser äußerst schmale Cambiumstreifen wird auch in der sehr erschwerten Ablösbarkeit der Rinde vom Holzkörper um diese Jahreszeit deutlich. Auf die Cambiumschicht kann nun entweder eine Zellreihe Parenchym, Siebzellen oder Bastfasern folgen. Bereits bei der ersten Bastfaserreihe nach dem Cambium sind die mehr oder weniger verdickten Wände eindeutig verholzt. Die sich anschließenden Siebzellen sind besonders weitlumig und zeigen deutliche Callose-Reaktion mit Resorcin-Blau. Siebzellen, die weiter zur Peripherie des Sprosses liegen, sind in diesem Entwicklungsstadium zumeist von den turgescenteren, häufig mit Gerbstoff

angefüllten Nachbarparenchymzellen zerdrückt, zeigen mitunter jedoch noch Callose-Reaktion. Diese Zellen haben dann auch einen degenerierten Protoplasten, wie die spätere elektronenmikroskopische Untersuchung ergeben hat.

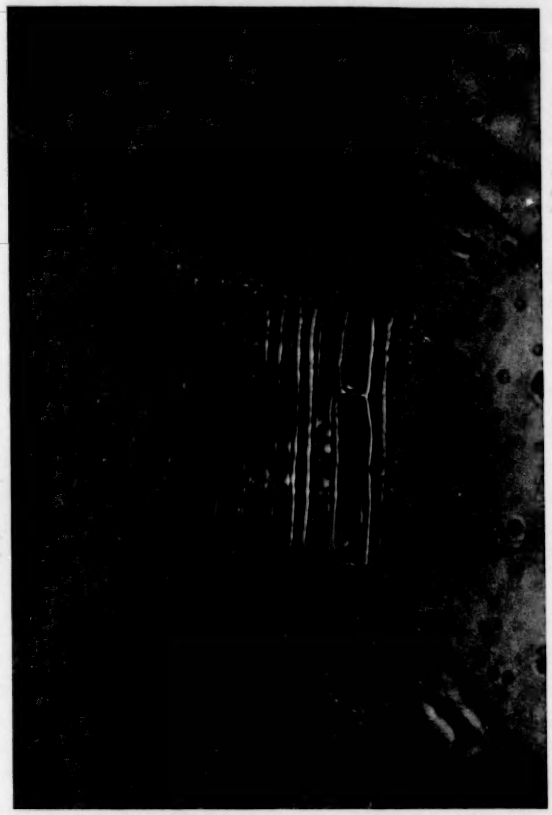

Abb. 1. Präparation unter Binokular und Lichtmikroskop vor der Ultramikrotomie. Aufsicht auf angespitzten Vestopalblock mit Präparat in der Spitze. (Die Pfeilmarkierungen verweisen auf die vier Schnittkanten der Pyramide.) Auf dem radialen Längsschnitt durch die cambiumnahen Xylem- und Phloembereiche sind im Anschluß an drei Spätholzelemente (*X*) zu erkennen: Cambium (*K*), wahrscheinlich 1. Siebzelle (*1. S*), 1. Bastfaser (*1. F*), 2. Siebzelle (*2. S*), 1. Parenchymzellen (*1. P*), 3. Siebzelle (bereits kollabiert) (*3. S*), 2. Bastfaser (*2. F*). Vergr. 435:1 (lichtmikroskopisch)

Von den Erfahrungen dieser Voruntersuchung ausgehend, daß sehr wahrscheinlich im Winter, wie bei der Lärche, auch bei *Metasequoia* die funktionstüchtigen Siebelemente, wenn überhaupt, dann im unmittelbaren Anschluß an das Cambium zu suchen sind, werden wir uns im folgenden in erster Linie auf die elektronenoptische *Beobachtung der cambiumnahen Phloemelemente* beschränken.

2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Der bereits erwähnte regelmäßige Phloem-Bau von *Metasequoia* läßt bei mittlerer elektronenmikroskopischer Vergrößerung auf Radialschnitten vier verschiedene Zelltypen klar hervortreten. Die Abb. 2 zeigt im Anschluß an eine „Cambiumzelle" (*K*) die erste Parenchymzellreihe (*P*), gefolgt von der ersten Siebzelle (*S*) und schließlich der ersten Bastfaser (*F*). Bei letzterer ist der Protoplast schon vollständig verschwunden; die Faser dürfte demnach ein endgültiges Differenzierungsstadium erreicht haben. Bei den übrigen Zellelementen wird das verhältnismäßig dichte Cytoplasma des typischen Ruhephloems besonders deutlich, obwohl in allen drei Zelltypen eine Vielzahl von Plasmavacuolen zu erkennen ist. Bei der vorliegenden Abb. 2 dürfte es sich wohl um einen Schnitt durch die zellwandnahen Plasmapartien handeln, so daß die großen Zentralvacuolen der einzelnen Zellen nicht getroffen sind. Deutlich erkennt man dafür in den drei verschiedenen Zellen eine unterschiedliche Vielzahl von Organellen.

a) „Cambium". Es ist angebracht, unter dem Begriff „Cambium" hier auch die undifferenzierten Phloemzellen mit zu betrachten, die, wie z. B. im vorliegenden Fall (Abb. 2), vielleicht bereits jüngste Siebzellen oder andere Phloemelemente vorstellen können (vgl. dazu auch HOHL 1960). Bisher wurden eingehendere Untersuchungen über die eigentliche cambiale Schicht von uns nicht vorgenommen. Das Cytoplasma derartig jüngster Phloemzellen wird von einer Vielzahl größerer und kleinerer Vacuolen durchsetzt. Daneben beobachteten wir vor allem junge Plastiden, die vereinzelt bereits kleine Stärkeeinlagerungen zeigten. Darüber hinaus kommen reichlich Mitochondrien vor sowie stark kontrastierte ringförmige Gebilde, die wohl den Strukturen in *Elodea*-Meristemzellen (MENKE 1960) entsprechen, und die wir hier zunächst einmal als Lipoidvacuolen deuten.

b) Phloem-Parenchym. Die Protoplasten der Phloem-Parenchymzellen erscheinen häufig besonders dicht. Das dürfte zunächst einmal daran liegen, daß schon in den jüngsten Parenchymzellen Gerbstoffe abgelagert werden, die mit OsO_4 einen intensiven Niederschlag geben. Nun sind aber daneben bei Behandlung mit J_2KJ im Lichtmikroskop in einer Vielzahl von Parenchymzellen dichte gelbe Niederschläge zu beobachten, denen wir vergleichbare Erscheinungen in bestimmten Markstrahlzellen zuordnen können. Wahrscheinlich handelt es sich hierbei um die von STRASBURGER (1891) und anderen Autoren beschriebenen sog. „Eiweißzellen". Bei Betrachtung im Elektronenmikroskop zeigen die Dünnschnitte im Cytoplasma derartiger Zellen einen feinflockigen, granulärfädigen Niederschlag, der mitunter auch die ganze Zentralvacuole anfüllen kann (Abb. 3). Erst weitere Untersuchungen können hier Unterschiede zwischen frühen Gerbstoffablagerungen und Substanzen,

Abb. 2. Radialer Längsschnitt durch das Phloem im Anschluß an Cambiumzelle (*K*) mit 1. Parenchymzellreihe (*P*), 1. Siebzelle (*S*) und erster ausdifferenzierter Bastfaser (*F*). Im relativ dichten Grundcytoplasma von Cambium-, Parenchym- und Siebzelle Vacuolen (*V*), Plastiden (*Pl*), Mitochondrien (*M*) und Lipoidvacuolen (*L*). Im Siebzellenplasma Elemente des Endoplasmatischen Reticulum (*ER*) deutlich. In der Bastfaser nur noch Reste des degenerierten Protoplasten. Vergr. 6500:1

die eiweißartiger Natur sein sollen, herausstellen. An bekannten Zellorganellen finden wir im Cytoplasma der Parenchymzellen neben je einem großen Zellkern zahlreiche Mitochondrien und Plastiden.

Letztere enthalten vor allem in den älteren Parenchymzellen im Januar reichlich Stärke (Abb. 4). Die große Menge stärkeführender Plastiden

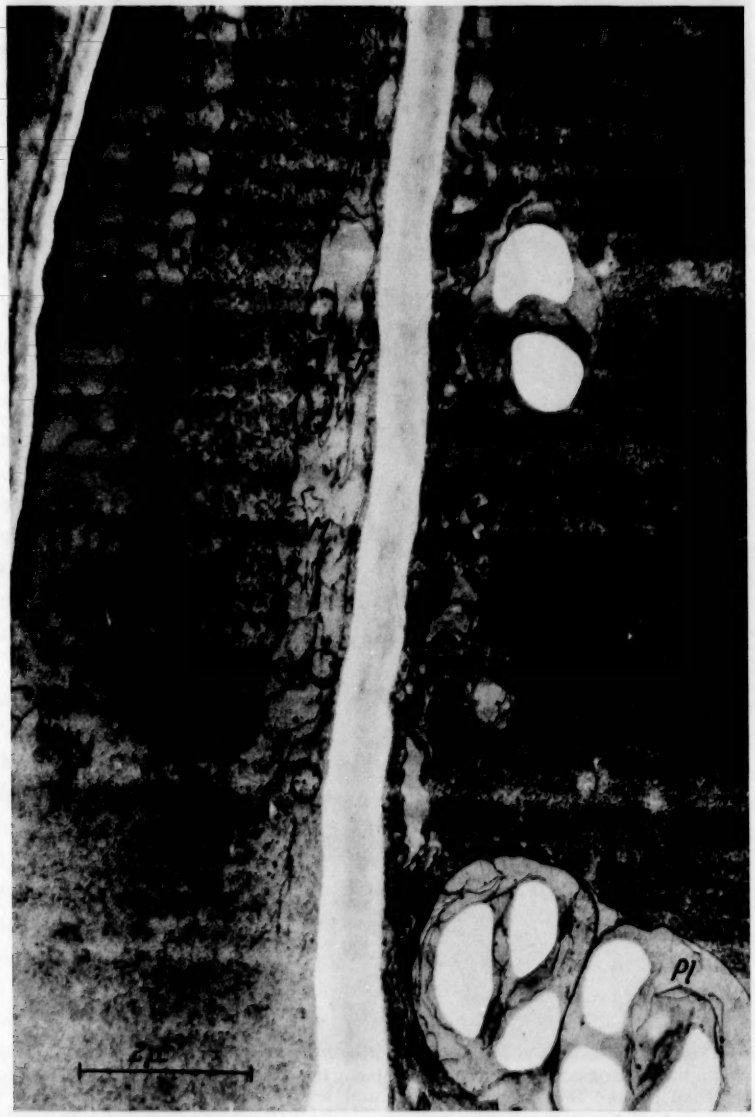

Abb. 3. Radialer Längsschnitt durch das Phloem mit 1. Faser (oben links), 1. Siebzelle (Mitte) und 1. Parenchymzelle (rechts). Im Siebzellenplasma Kern (*Ke*), Endoplasmatisches Reticulum (*ER*) und Mitochondrien (*M*). In der Parenchymzelle Vacuole (*V*) mit elektronendichtem Niederschlag; Plastiden (*Pl*) mit mehreren nicht kontrastierten Stärkekörnern. Vergr. 11 000 : 1

ist charakteristisch für Parenchymzellen des Ruhephloems. Nicht selten durchziehen das Cytoplasma einzelne ausgedehnte Zisternen des Endo-

plasmatischen Reticulums (*ER*) (Abb. 5), wobei allerdings Verbindungen mit der meist porenfreien Kernmembran (WATSON 1955; WHALEY, MOLLENHAUER und KEPHART 1959; WHALEY, MOLLENHAUER und

Abb. 4. Phloemparenchymzelle mit Kern (*Ke*), Mitochondrien (*M*) und zahlreichen, stärkehaltigen Plastiden (*Pl*). Vergr. 14 500:1

LEECH 1960a) in diesen ausdifferenzierten Zellen des Ruhephloems nur sehr selten zu beobachten sind (vgl. dazu auch WHALEY, MOLLENHAUER und LEECH 1960b). Mitunter scheinen vesiculäre Einschlüsse in den erweiterten Zisternen des *ER* aufzutreten (Abb. 5 Pfeilmarkierung), eine Erscheinung, die wir bisher nicht deuten konnten. Es sei denn, daß es sich hierbei um Anschnitte von Membraneinstülpungen

in den Binnenraum der *ER*-Zisternen handelt. Ihr fein granulärer Inhalt unterscheidet diese „Einschlußvesikel" allerdings von den üblichen im

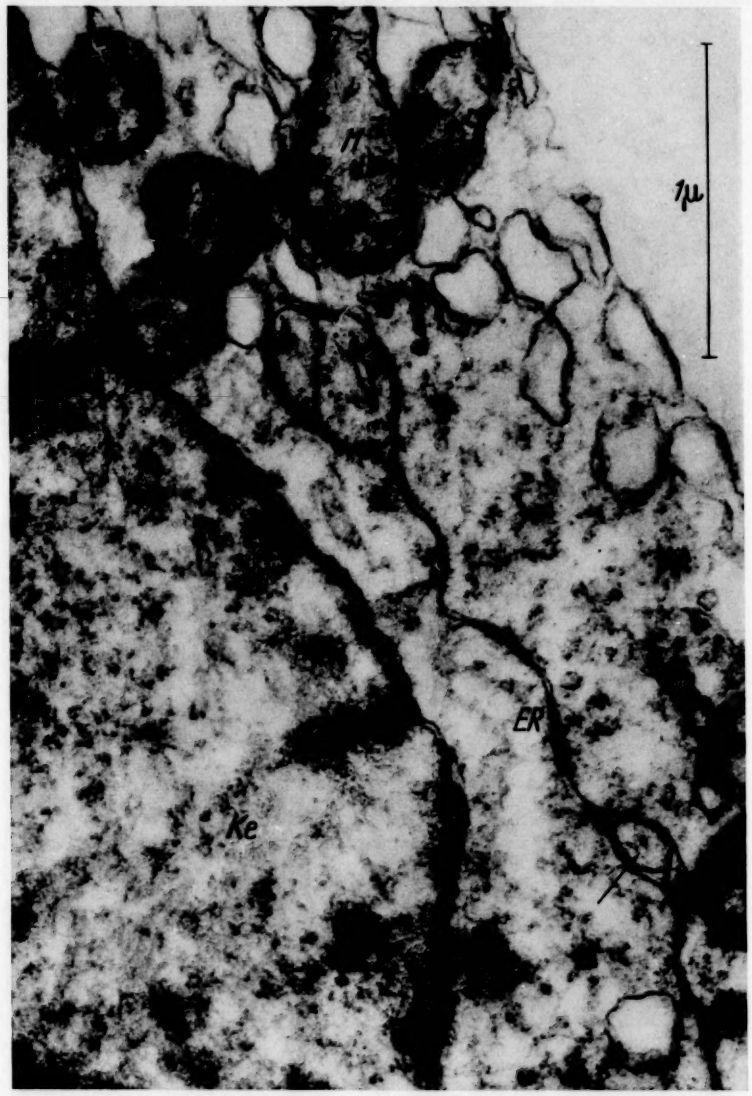

Abb. 5. Phloemparenchymzelle mit Kern (*Ke*), Mitochondrien (*M*) und Endoplasmatischem Reticulum (*ER*). In der langgestreckten Zisterne des *ER* Einschlußvesikel mit feingranulärem Inhalt (Pfeilmarkierung). Vergr. 39500:1

Cytoplasma der Parenchymzellen frei vorkommenden Vesikel, die wir gleichfalls mit dem *ER* oder zerstreut vorkommenden Golgi-Apparaten in Zusammenhang bringen.

c) Siebzellen. In unmittelbarer Nachbarschaft zum ersten ausdifferenzierten Bastfaserring (vgl. Abb. 2) begegnen wir dem dritten Zell-

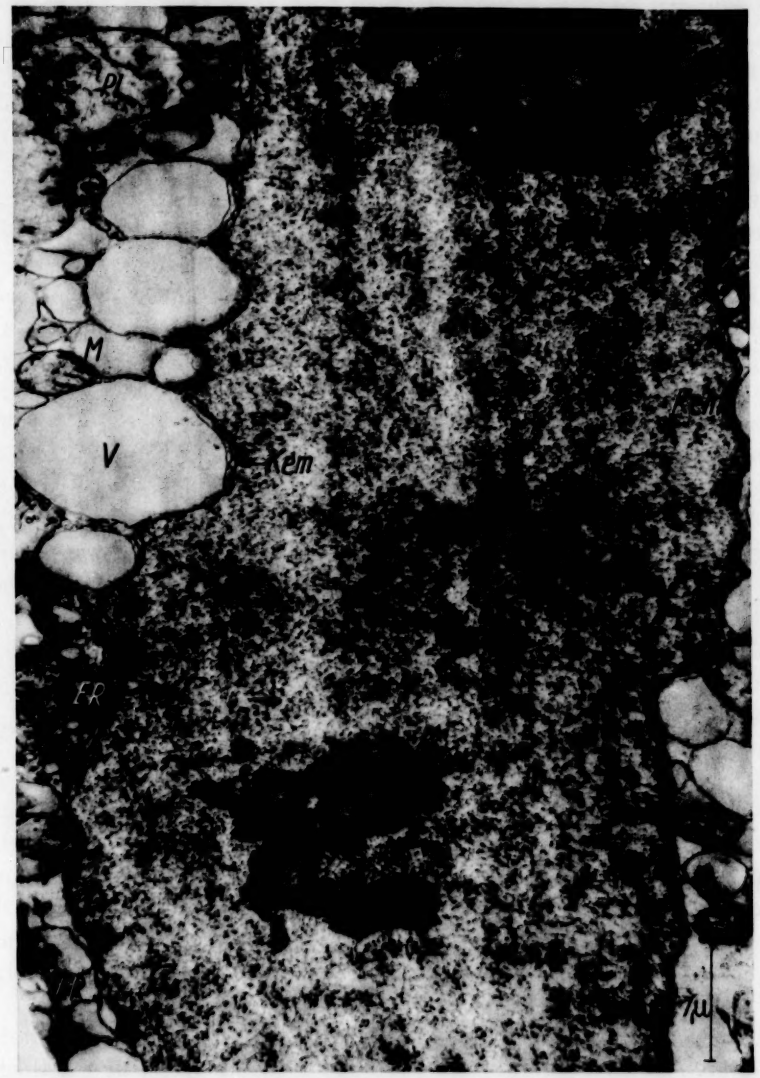

Abb. 6. Besonders großer Kern einer jüngeren (?) Siebzelle mit deutlicher Kernmembran (*Kern*). Bei *N* wahrscheinlich verteilte Nucleolarsubstanz. Im vacuolisierten Siebzellenplasma Plastiden (*Pl*), Mitochondrien (*M*) und Elemente des Endoplasmatischen Reticulums (*ER*). Vergr. 17 500:1

typ des Phloems, den Siebzellen. Ihr Cytoplasma ist, der Jahreszeit entsprechend, ebenfalls auffallend dicht strukturiert.

Erstaunlich ist zunächst, daß wir innerhalb der langgestreckten, spindelförmigen Zellelemente in diesem Entwicklungszustand bei *Meta-*

sequoia den Zellkern noch eindeutig nachweisen können (Abb. 3 und 6). Dieser wirkt zwar beträchtlich „angeschwollen", so daß er auf unseren Abbildungen bis auf einen peripheren, relativ schmalen Plasmasaum den größten Teil des Zellraumes beansprucht, doch zeigt er immerhin noch die bei vielen Pflanzenzellen bekannte Feinstruktur eines Zellkernes. Im Kerninnenraum kann man neben einer offensichtlichen Verteilung der Nucleolarsubstanz eine gewisse Auflockerung und Strukturvergröberung feststellen. Besonders deutlich tritt die Kernmembran hervor. Eine Diskussion darüber, wieweit diese unsicheren Merkmale bereits den Schluß auf eventuelle Degenerationserscheinungen des Siebzellenkerns zulassen, erscheint zu diesem Zeitpunkt noch verfrüht.

Im dichten Grundcytoplasma der Siebzellen fallen zunächst zahlreiche Vacuolen auf. In den verschiedensten Ausmaßen von 4 μ bis zu sublichtmikroskopisch kleinen Vesikeln von 0,1 μ Durchmesser werden alle Übergänge beobachtet. Anastomosen zwischen den einzelnen Vacuolen, wie sie Buvat (1958) beschreibt, konnten dabei nicht festgestellt werden, obwohl mehrere Vacuolen oft so dicht zusammen liegen, daß sie nur noch durch ihre jeweiligen Tonoplasten voneinander getrennt erscheinen (Abb. 7 und 8). Die bei anderen Phloemzellen bereits beschriebenen sog. Lipoidvacuolen treffen wir im Siebzellenplasma nur sehr selten. Nicht zu übersehen sind die reichlich vorhandenen Mitochondrien. Als rundliche oder langgestreckte Organellen kommen sie in Größenordnungen von etwa 0,2—1,5 μ vor. Ihr Feinbau entspricht dem der bekannten pflanzlichen Mitochondrien. Die recht zahlreichen, zumeist jungen Plastiden enthalten nur ausnahmsweise kleine Stärkekörnchen und zeigen mitunter die von Mühlethaler (1959) und Schnepf (1960) beschriebene Binnenstruktur konzentrischer Innenmembranen.

Unsere besondere Aufmerksamkeit aber wird auf eine Cytoplasmakomponente gelenkt, der wir in der vorliegenden Differenzierung bisher noch in keiner anderen Phloemzelle von *Metasequoia* begegnet sind: Eine Vielzahl sehr feiner Röhren durchzieht das Grundcytoplasma der Siebzellen in dichtester, ausschließlich längsgestreckter (!) Orientierung auf weite Strecken, ohne dabei jemals mit den oben beschriebenen Plasmavacuolen in Verbindung zu treten (Abb. 2, 3, 6, 7 und 8).

Zunächst muß entschieden werden, ob es sich bei den beobachteten Strukturen tatsächlich um tubuläre Elemente oder vielmehr um flache, in zwei Dimensionen gestreckte Zisternen (Palade und Porter 1954) handelt. Für eine Röhrenstruktur sprechen dabei folgende Beobachtungen: 1. Die Einzelelemente sind in ihrem gestreckten Verlauf sehr häufig unterbrochen. 2. Es werden regelmäßig ringförmige Strukturen gefunden. 3. Die etwa 60 Å messende osmiophile Grenzmembran einer Einzel-„Fibrille" ist gegenüber dem gleichfalls, wenn auch schwächer kontrastierten, etwa 120 Å (die Einzelwerte streuen erheblich!) weiten

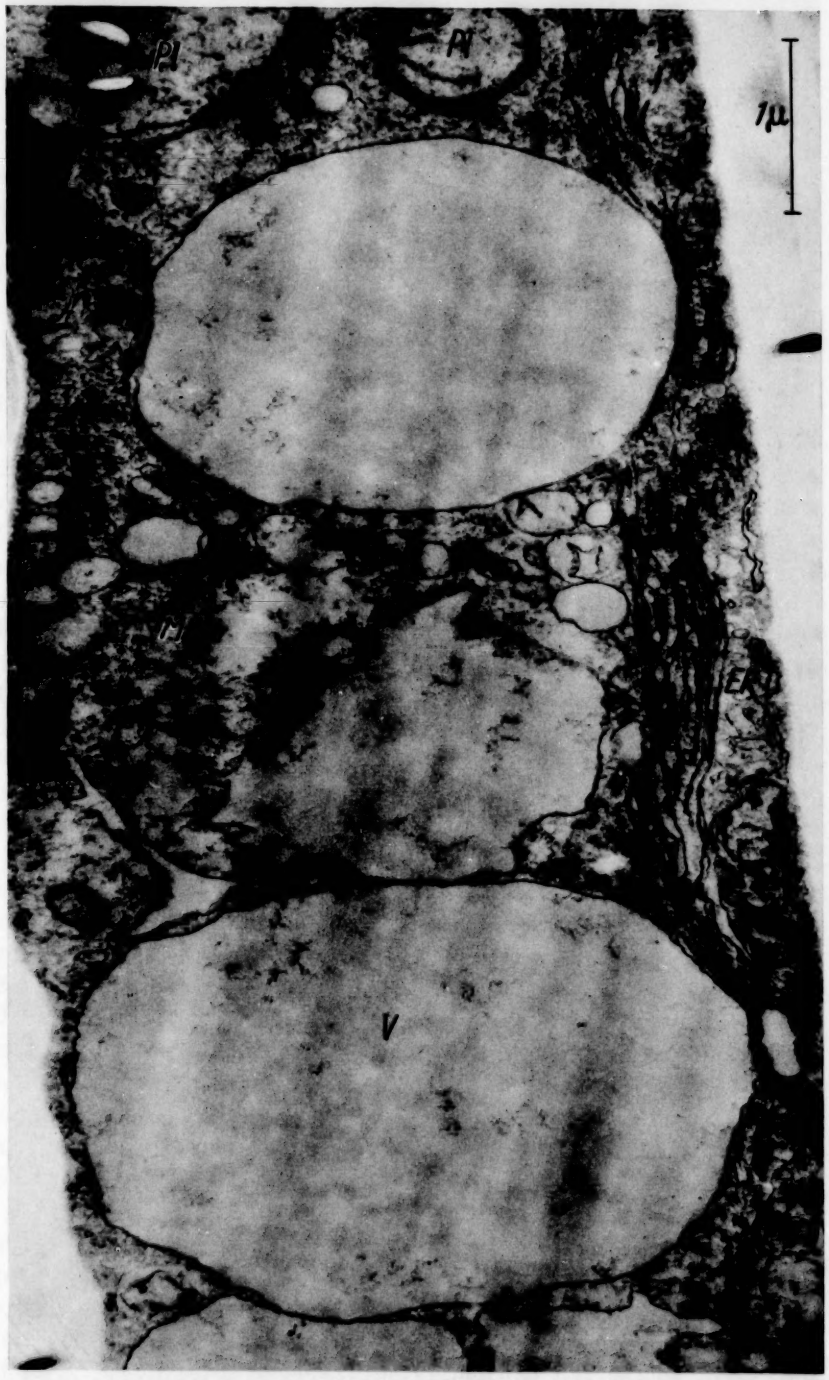

Abb. 7. 1. Siebzelle nach Cambium. Im dichten Grundcytoplasma große Vacuolen (*V*), Plastiden mit geringen Stärkeablagerungen (*Pl*), Mitochondrien (*M*) und tubuläre *ER*-Strukturen. Vergr. 22 000:1

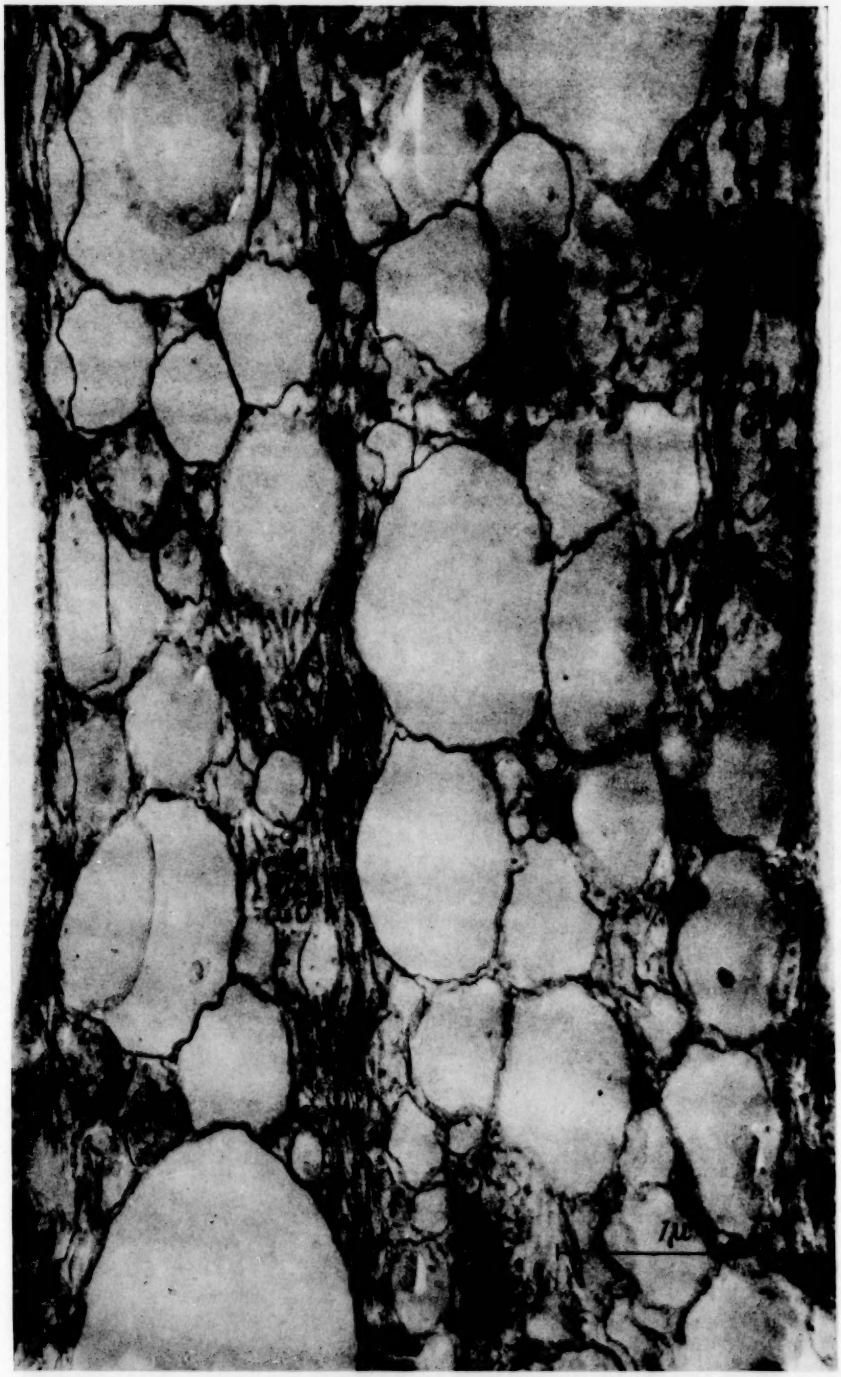

Abb. 8. Cytoplasma der Siebzelle von Abb. 3. Eine Vielzahl sehr feiner Röhren des *ER* durchzieht den vacuolisierten Protoplasten in dichter, ausschließlich längsgestreckter Orientierung. Vergr. 31 000:1

Binnenraum auf der Innenseite nicht scharf begrenzt; (vgl. dagegen den Bau einer echten Zisterne im Querschnitt z. B. bei der Kernmembran in Abb. 6, sowie den Zisternen des *ER* in Abb. 5 und 10).

Wir sind der Ansicht, daß es sich bei den hier beschriebenen Strukturen um eine Differenzierung des Endoplasmatischen Reticulums (*ER*) handelt, auch wenn wir unseren Befund bisher keinen der vergleichbaren, zuverlässigen Angaben bei anderen Pflanzenzellen zuordnen können. Bei der Sonderstellung, die Siebzellen und Siebröhren zweifellos einnehmen, dürfte dies nicht so sehr verwundern. Tubuläre Strukturen des *ER* werden bei tierischen und pflanzlichen Zellen zwar häufiger beschrieben (BUVAT 1958, 1961; PALADE 1956; PORTER und BRUNI 1960b; PORTER und PALADE 1957; WHALEY, MOLLENHAUER und KEPHART 1959; vgl. auch SITTE 1961), doch dürfte, auch wenn man eine starke Variabilität dieser Strukturen berücksichtigt, zumeist ein Lakunen- oder Zisternensystem des *ER* in den mannigfaltigen Zellen zur Darstellung gelangt sein. Die tubulären *ER*-Strukturen in unseren mit OsO_4-fixierten (!) Siebzellen, deren Kern wir noch eindeutig nachweisen können, sind niemals mit Ribosomen besetzt, gehören demnach zur sog. "smooth-surfaced"-Form des *ER* („agranular reticulum") (PALADE 1955, 1956; PALAY und PALADE 1955; PORTER und BRUNI 1960a und b; PORTER und PALADE 1957; PORTER und YAMADA 1960). Auf die gelegentlich zu beobachtenden lokalen „Anschwellungen" der einzelnen *ER*-Röhren (s. Abb. 7, Pfeilmarkierung) soll hier nicht näher eingegangen werden. Es sind dies charakteristische Veränderungen der *ER*-Strukturen, über die später eingehender berichtet werden soll (vgl. dazu auch KOLLMANN 1961a, b).

d) Markstrahlen. Die beschriebenen Differenzierungen des Siebzellenplasmas erfordern einen kurzen Vergleich mit denjenigen Feinstrukturen, die wir in Markstrahlzellen des Phloems von *Metasequoia* gefunden haben. Der Vergleich zwischen beiden Zelltypen liegt in ihrer Funktion begründet: Siebzellen und Markstrahlzellen fällt die Aufgabe der Leitung organischer Stoffe zu. Erstere leiten bevorzugt in Längsrichtung des pflanzlichen Organs, letzteren dürfte vornehmlich eine horizontale Stoffleitung zukommen. Die weniger spezialisierten Markstrahlzellen erfüllen daneben noch eine Speicherfunktion und mögen auch eine Rolle beim Ein- und Austritt der Stoffe in die Leitelemente der Längsbahnen spielen.

Das Grundcytoplasma der Markstrahlzellen ist ausnahmslos dicht strukturiert. Auch die Zellvacuolen scheinen zumindest im Ruhephloem von einem feinflockigen, granulär-fädigen Niederschlag derartig erfüllt, daß ein begrenzender Tonoplast nur mit Mühe zu identifizieren ist. Vergleichbaren Erscheinungen waren wir bereits bei der Beschreibung der Parenchymzellen begegnet; die Vermutung, daß es sich hierbei mitunter um sog. „Strasburgersche Eiweißzellen" handelt, liegt nahe.

Innerhalb des Cytoplasmas befinden sich neben einem besonders großen Kern sehr wechselhafter Gestalt Mitochondrien und vor allem bis zu

Abb. 9. Markstrahlzelle: Im besonders dichten Grundcytoplasma Kern (*Ke*), Mitochondrien (*M*), stärkehaltige Plastiden (*Pl*) und Elemente des Endoplasmatischen Reticulum (*ER*). Vergr. 22 000:1

4 μ große Plastiden in beträchtlicher Anzahl. Die Plastiden zeigen eine reiche Stroma-Lamellierung und sind um diese Jahreszeit mit großen

Stärkekörnern erfüllt (Abb. 9). Neben zerstreut vorkommenden Golgi-Apparaten ist nun aber ferner im Cytoplasma der Markstrahlzellen eine

a b

Abb. 10. Markstrahlzelle: Über große Strecken durchziehen Zisternen des *ER*, häufig zu mehreren „geschichtet", das dichte Grundcytoplasma mit Golgiapparat (*G*) und Mitochondrien (*M*). In 10b in Zellwandnähe (*W*) tubuläre Fortsätze der *ER*-Zisternen, teilweise im Querschnitt (Pfeilmarkierung), die — hier nicht mit abgebildet — gewöhnlich in die Plasmodesmen einmünden. Vergr. 31 000:1

starke Ausbildung des *ER* bemerkenswert. Im Vergleich zu den Differenzierungen im Siebzellenplasma beobachten wir jedoch hier keine eindeutigen Röhrenstrukturen, sondern ausgedehnte Zisternen, die allerdings in Stapeln bis zu sechs Membranpaaren in Zellwandnähe

durch das Plasma dahinziehen (Abb. 10). Nach anderen, hier nicht abgebildeten Aufnahmen von uns scheinen diese *ER*-Membranen sogar nicht selten vom Plasmodesmenfeld der Tüpfel der einen tangentialen Wand zu einem Tüpfelfeld der gegenüberliegenden Wand hinüberzuziehen. Das ausgesprochene Zisternensystem des *ER* konnte in Serienschnitten eindeutig bewiesen werden. Es soll an dieser Stelle noch nicht näher auf den offensichtlich hochinteressanten Vergleich zwischen Siebzellen und Markstrahlzellen eingegangen werden. Auch zeigen die hier beschriebenen, unterschiedlichen Differenzierungen des *ER* in beiden Zelltypen sehr deutlich, wie vorsichtig wir bei der Frage nach einer Bedeutung der gefundenen Strukturen mit voreiligen Schlußfolgerungen sein müssen. Die Tatsache ihres Vorkommens in den Markstrahlzellen sei daher zunächst lediglich festgehalten.

D. Besprechung der Ergebnisse

Wie entscheidend die Wahl des mehr oder weniger günstigen Objektes bei Phloem-Untersuchungen ist, haben die zahlreichen unterschiedlichen Ergebnisse bisher nur zu deutlich bewiesen. Ohne Zweifel liegt es zunächst nahe, auch für elektronenoptische Untersuchungen die häufig studierten, klassischen Objekte der Lichtmikroskopie zu benutzen (BEER 1959; BUVAT 1960), oder physiologische Experimente einer nachträglichen anatomischen Untersuchung am gleichen Objekt zu unterziehen (ZIEGLER 1960). Doch haben bereits die zahlreichen lichtoptischen Beobachtungen nur zu deutlich gezeigt, ein wie ungünstiges Objekt z. B. *Cucurbita pepo* für Untersuchungen des Siebröhrenplasmas darstellt. Es ist daher kaum verwunderlich, wenn wir dem ja weitaus stärkeren Eingriff bei der elektronenoptischen Beobachtung etwa von Kürbis-Siebröhren mit gewisser Skepsis begegnen. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen vom Siebröhrenplasma bei *Heracleum mantegazzianum* (ZIEGLER 1960) lassen ebenfalls erkennen, daß Präparation und Fixierung nicht optimal gewesen sind. Eine wirklichkeitsnahe Deutung der verschiedenen beschriebenen Cytoplasmastrukturen muß daher vorläufig etwas gewagt erscheinen.

Bei der Untersuchung des Ruhephloems der Conifere *Metasequoia glyptostroboides* sollte jedoch diesen methodischen Schwierigkeiten, die bisher jede allgemein gültige Aussage erschwerten, besser begegnet sein. Wir halten diese technischen Voraussetzungen zunächst für wesentlicher, als jede vage Diskussion darüber, ob die untersuchten Siebelemente einem „funktionstüchtigen" Zustand entsprechen oder nicht. Wir werden auf diese Frage daher erst zurückkommen, wenn wir die ganze Entwicklung der Phloemelemente als Derivate des Cambiums wenigstens über den Zeitraum eines vollen Jahres genauer verfolgt haben.

Im Winter haben alle vier verschiedenen, lebenden Zelltypen des Phloems von *Metasequoia* ein ausnahmslos dichtes Grundcytoplasma. Besonders dicht strukturiert erscheint der Protoplast in den „Strasburgerschen Eiweißzellen" der Markstrahlen und des Parenchyms. In ihnen sind selbst die Vacuolen mit elektronendichter Substanz derartig erfüllt, daß ein Erkennen mitunter Schwierigkeiten bereitet, während in den übrigen Zellen die zahlreichen Plasmavacuolen unterschiedlicher Größe deutlich hervortreten. Gleich ist allen Zelltypen eine gewisse Grundausstattung mit Zellorganellen, die allerdings in Einzelfällen bemerkenswerte Differenzierungen in den verschiedenen Phloemzellen erfahren.

Der *Zellkern* konnte regelmäßig in allen Zellen gefunden werden, auch in den Cambiumzellen, die hier nicht besonders erwähnt wurden. Besonders groß und vielgestaltig ist der Kern in den „Eiweißzellen". In der Kernmembran konnten nur selten Poren nachgewiesen werden, und auch direkte Verbindungen zu den Elementen des *ER* scheinen in unseren Zellen selten vorzukommen. Es mag dies eine Eigenart des Ruhephloems sein oder der allgemeinen Beobachtung von Whaley, Mollenhauer und Leech (1960 b) entsprechen, wonach der in Meristemzellen sehr häufig zu beobachtende Übergang von Kernmembran in die Elemente des *ER* bei älteren, sich differenzierenden Pflanzenzellen zusehends schwinden soll.

Interessant scheint das Fortbestehen eines Zellkernes in den Siebzellen von *Metasequoia*. Eine Kerndegeneration in den Siebelementen ist ja bei vielen Species aus der Gruppe der Angiospermen und vereinzelt auch Gymnospermen (Abbe und Crafts 1939) beschrieben und mit guten Bildern belegt. (Über die Literatur hierzu vgl. Kollmann 1960 a). So ist auch zunächst nicht zu erwarten, daß *Metasequoia* hierin eine Ausnahme darstellt. Es müßte aber bei dieser Art das Phänomen der Kerndegeneration erst einmal lichtoptisch untersucht werden. Dann erst kann über die zunächst nichts weiter beweisende Tatsache diskutiert werden, daß in den ersten Siebzellen nach dem Cambium im Winter zweifellos der Zellkern noch besteht. Es soll nur noch hinzugefügt werden, daß die nach außen folgenden nächsten Siebzellen in diesem Stadium bereits einen völlig degenerierten Protoplasten besaßen, so daß also nur eine einzige Zellschicht überlebte.

In allen untersuchten Phloemzellen wurden zahlreiche *Plastiden* gefunden, die in den als Speicherzellen anzusprechenden Parenchym- und Markstrahlzellen im Winter, wie zu erwarten, reichliche Mengen Stärke enthielten. In den Plastiden der Siebzellen und Cambiumzellen trafen wir jedoch in dieser Jahreszeit keine nennenswerten Stärkeablagerungen. Es dürfte daher interessant werden, die Frage nach der unterschiedlichen Verteilung von Stärke in den Plastiden der einzelnen Zelltypen des Phloems im Verlauf eines ganzen Jahres zu verfolgen.

Mitochondrien fehlten in keiner Zelle des Ruhephloems, auch nicht in den Siebzellen. Es war dies nach unseren Erfahrungen bei *Passiflora coerulea* (KOLLMANN 1960b) auch durchaus zu erwarten, und es ist kaum noch anzunehmen, daß es sich bei beiden Arten um Sonderfälle handelt. Dem immer wieder erhobenen und durch nichts belegten Einwand, daß es sich bei den von uns beschriebenen Siebzellen bzw. Siebröhren noch um zu junge, nicht ausdifferenzierte Zellelemente handelt (ZIEGLER 1960), sei bereits hier entgegnet, daß wir inzwischen auch in den sicher voll funktionstüchtigen Juni-Siebzellen bei *Metasequoia* wohl differenzierte Mitochondrien gefunden haben (vgl. KOLLMANN 1961a). Dabei scheint es sich schon jetzt abzuzeichnen, daß die Zahl der Mitochondrien in den geleitzellfreien Coniferen-Siebzellen diejenige bei Angiospermen-Siebelementen, wo regelmäßig Geleitzellen ausgebildet werden, übertrifft.

Wenn in den Siebröhrengliedern von *Cucurbita pepo* (BEER 1959; BUVAT 1960) und *Heracleum mantegazzianum* (ZIEGLER 1960) bisher keine Mitochondrien mehr nachgewiesen werden konnten, so mag es dafür verschiedene Gründe geben: 1. Bei allgemein unzureichender Strukturerhaltung in den fixierten Siebelementprotoplasten kann man kaum erwarten, daß die einzelnen Zellorganellen noch erkennbar dargestellt werden. Die große Empfindlichkeit der Zellstrukturen z.B. gegenüber Veränderungen des osmotischen Wertes und der Wasserstoffionen-Konzentration ist hinreichend bekannt (MALAMED und RECKNAGEL 1958; KLIMA 1960 u. a.). Nun wissen wir aber, daß gerade die Wasserstoffionenkonzentration und der osmotische Wert in den Siebelementen eine erhebliche Sonderstellung gegenüber den anderen pflanzlichen Zellen einnehmen, eine Tatsache, die beim Fixieren dieser Zellelemente zunächst einmal berücksichtigt werden muß (vgl. dazu auch KOLLMANN 1960a und b). 2. Ein weiterer wesentlicher Punkt ist der Entwicklungszustand der jeweils untersuchten Siebelemente. Ihre Protoplasten sind bekanntlich im Vergleich zu normalen Pflanzenzellen relativ kurzlebig. Es ist daher weit eher möglich, daß von den oben genannten Autoren Siebelemente mit bereits degenerierten Protoplasten untersucht und somit zwar „ausdifferenzierte", aber kaum noch funktionstüchtige Zellen beschrieben wurden.

Golgi-Apparate waren in den verhältnismäßig dichten Protoplasten der Ruhephloemzellen mitunter schwer zu identifizieren, konnten aber zumindest für Parenchym- und Markstrahlzellen eindeutig beobachtet werden.

Ein *Endoplasmatisches Reticulum* (*ER*) treffen wir in den einzelnen Phloemzellen in unterschiedlicher Differenzierung an. Während man in den cambialen Zellen beim Ruhephloem kaum von einem Endomembransystem sprechen kann (vgl. auch HOHL 1960), lassen sich schon

in den Phloemparenchymzellen ausgedehnte *ER*-Zisternen nachweisen, die mitunter Einschlußvesikel enthalten. Eine besonders starke Ausbildung scheint das *ER* in den Markstrahlzellen zu erfahren. Die vielfach geschichteten langen Zisternenbündel, und der offensichtliche Kontakt der Membranen mit den Plasmodesmen, der später behandelt werden wird, legt natürlich einen Zusammenhang mit der funktionellen Bedeutung dieser Zellelemente nahe (WHALEY, MOLLENHAUER und KEPHART 1959).

Der Befund eines hochdifferenzierten tubulären *ER*-Systems in den Siebzellen von *Metasequoia* aber scheint zunächst ziemlich isoliert dazustehen. BUVAT (1960) erwähnt bei *Cucurbita pepo* in den degenerierenden Protoplasten der Siebröhrenglieder Röhren- und Bläschenstrukturen des *ER*, die aber auf den Abb. 8 und 9 nicht eindeutig zu erkennen sind. Es ist jedoch zu erwarten, daß es sich bei den die Siebporen in den Siebplattenquerwänden durchziehenden Plasmamembranen (Abb. 9; „structures membranaires") um vergleichbare Strukturen handelt. Bei HOHL (1960) finden wir im Siebzellenplasma von *Datura stramonium* auf der Abb. 25 eine dichte Anordnung vieler „200 Å dicker Lamellen", die aber nach der Ansicht des Autors nichts mit dem „Ergastoplasma" zu tun haben sollen. Wenn HOHL unter dem Begriff Ergastoplasma hier das *ER* allgemein versteht, so muß dieser Befund wohl noch einmal an Aufnahmen, die eine bessere Strukturauflösung zeigen, überprüft werden. Es ist nämlich durchaus möglich, daß es sich bei den 200 Å dicken Lamellen um einzelne Membranpaare handelt. Leider gibt HOHL in seinen Angaben nicht an, ob er die „Lamellen"-Natur der Strukturen auf Serienschnitten wirklich nachweisen konnte. ZIEGLER (1960) beschreibt bei *Heracleum* eine durchgehend lamelläre Strukturierung des Siebröhrenplasmas, wobei die einzelnen Plasmastränge aus „Doppellamellen" bestehen sollen. Mit ihren 20 Å dicken, osmiophilen Außenmembranen und einem weniger kontrastreichen, 40 Å messenden Binnenraum werden die Lamellen mit den Zisternen des *ER* verglichen, eine Hypothese, die freilich durch die beigefügten Aufnahmen nicht belegt werden kann. Auch ein Vergleich des hier bei *Metasequoia* beschriebenen Siebzellenplasmas mit unseren früheren Befunden bei *Passiflora* (KOLLMANN 1960b) ist noch lückenhaft. Wohl konnte wenigstens in den plasmatischen Verbindungsbrücken der Siebplatten von *Passiflora coerulea* tatsächlich eine gebündelte eindeutige Röhrenstruktur abgebildet werden, doch steht der jetzt naheliegende Beweis noch aus, daß auch die „fädigen Elemente" im Lumen der Siebröhrenglieder eine gleiche Struktur besitzen. Vielleicht kann auch hier erst die Untersuchung der weniger labilen Siebröhrenprotoplasten des Ruhephloems im Winter den letzten Beweis für die Existenz eines *ER*-Systems in den Siebröhren dieser Angiosperme erbringen.

Über die funktionelle Bedeutung der vorstehend aufgezeigten *ER*-Strukturen zu diskutieren, erscheint uns aus verschiedenen Gründen noch verfrüht. Wir erhoffen uns von der weiteren Beobachtung des jahreszeitlichen Strukturwandels, über die wir berichten werden, wesentliche weitere Aufschlüsse. Auch bei anderen Zellen tierischer wie pflanzlicher Herkunft sind ja unsere Vorstellungen über die Funktion des Endomembranensystems noch nicht über Vermutungen hinausgekommen (unter anderem Buvat 1961, Sitte 1961). Der Gedanke, daß seine besondere Ausbildung in den Siebröhren und Markstrahlen etwas mit den Transportvorgängen zu tun haben könnte, liegt natürlich nahe. Doch darf nicht vergessen werden, daß alle unsere Bilder nur Momentphotographien eines sich dauernd ändernden und in dauerndem Fluß befindlichen Geschehens sind. Darum bleibt gar kein anderer Weg, als möglichst viele Entwicklungs- und Funktionsstadien so genau wie möglich vergleichend zu erfassen und zu beschreiben.

Zusammenfassung

Aus dem Versuch, die elektronenoptisch erkennbaren cytoplasmatischen Feinstrukturen und ihre Veränderungen im Phloem von *Metasequoia glyptostroboides* während einer ganzen Vegetationsperiode vergleichend zu verfolgen, werden die ersten Studien über das „Ruhephloem" im Winter (Januar) mitgeteilt.

Die in unmittelbarer Nähe des Cambiums um den ersten ausdifferenzierten Bastfaserring liegenden, lebenden Zellreihen (Cambium-, Parenchym-, Markstrahl- und Siebzellen) haben durchweg einen relativ dichten Protoplasten, in dem Vacuolen unterschiedlicher Größe zu beobachten sind. Bei denjenigen Parenchym- und Markstrahlzellen, die wohl mit den Strasburgerschen „Eiweißzellen" identisch sein dürften, sind diese Vacuolen von einem feinflockigen Niederschlag erfüllt.

In allen Phloemzellen einschließlich der Siebzellen wurden je ein Zellkern, Mitochondrien und Plastiden in wechselnder Zahl gefunden. Letztere enthielten bei den Parenchym- und Markstrahlzellen zahlreiche größere Stärkekörner.

Das *Endomembransystem* ist in den einzelnen Zellarten unterschiedlich entwickelt. In den Cambiumzellen des Ruhephloems wurde kein deutliches Endoplasmatisches Reticulum (*ER*) beobachtet. Im Cytoplasma der Parenchymzellen kommen einzelne langgestreckte Zisternen des *ER* vor. Das Plasma der Markstrahlzellen wird häufig über große Strecken von ganzen Zisternenbündeln durchzogen, deren einzelne Membranpaare in Verbindung mit den Plasmodesmen der Tüpfelfelder zu stehen scheinen.

Eine besonders bemerkenswerte Ausbildung des *ER* wurde jedoch in den Siebzellen beobachtet: *In ihnen durchzieht eine Vielzahl sehr*

feiner Röhren das Grundcytoplasma in dichtester, ausschließlich längsgestreckter Anordnung (Abb. 8).

Mitteilungen über die weiteren Entwicklungsformen dieser sicher für den Stofftransport nicht unwesentlichen Strukturen im Laufe der Vegetationsperiode werden folgen.

Summary

The development of phloem elements of the gymnosperm *Metasequoia glyptostroboides* has been studied during a complete year. In this first report, observations concerning the fine structure of the "dormant phloem" (January-fixation) are described.

After comparative light-microscopic observations of radial sections, those phloem cells associated with the first file of differentiated fibers, next to the cambium, have been investigated electron-microscopically.

The protoplasts of these cells, being especially dense in winter, are less vulnerable and, therefore, are more easily prepared without artefacts.

Within the dense cytoplasm many vacuoles of different size can be found. In those parenchyma and ray cells, which perhaps represent the "Strasburgerschen Eiweißzellen", the vacuoles enclose a dense filamentous precipitation.

In the cytoplasm of all phloem cells, even in the sieve cells, a nucleus, mitochondria and plastids are observed. The plastids of parenchyma and ray cells contain many large starch grains in January.

The endoplasmic reticulum (*ER*) shows a varying degree of development in the cytoplasm of the different phloem cells; while in the cambial cells of dormant phloem the elements of *ER* cannot be found, single extended elements, so called cisterns, of *ER* are observed in the cytoplasm of parenchyma cells.

Many closely grouped thin tubules of ER pass through the cytoplasm of the sieve cells in longitudinal direction only. They proved to be a characteristic part of the protoplasts of these cell elements (Fig. 8).

In the ray cells, which are also concerned with a conducting function, the *ER* may be observed in a distinct degree of differentiation, forming extended cisterns in a closely grouped arrangement. These structures are sometimes seen to be in contact with the plasmodesmata of the pit fields.

Further reports on the development of the cytoplasmic structures of phloem cells during the periodic activity of *Metasequoia glyptostroboides* will shortly be published.

Literatur

Abbe, L. B., and A. S. Crafts: Phloem of white pine and other coniferous species. Bot. Gaz. **100**, 695—722 (1939).

Beer, M.: Fine structure of phloem of cucurbit as revealed by the electron microscope. Vortr. IX. Internat. Bot. Kongr., Montreal, 1959. Abstr. in: Proc. IX. Internat. Bot. Congr. **2**, 26 (1959). Zit. nach Ziegler 1960.

Buvat, R.: Recherches sur les infrastructures des cytoplasmes dans les cellules du méristème apical, des ébauches foliaires et des feuilles développées *d'Elodea canadensis*. Ann. Sci. natur., Bot. (Paris), Sér. XI **19**, 123—161 (1958).

— Observations sur les ultrastructures du cytoplasme au cours de la différenciation des cellules criblées de *Cucurbita pepo* L. C.R. Acad. Sci. (Paris) **250**, 1528—1530 (1960).

— Sur le reticulum endoplasmique dans la cellule végétale. Vortr. Dtsch. Botaniker Tagg in Halle a. d. Saale 1961.

CURRIER, H. B., K. ESAU and V. J. CHEADLE: Plasmolytic studies of phloem. Amer. J. Bot. **42**, 68—81 (1955).

ESAU, K.: Phloem structure in the grape vine and its seasonal changes. Hilgardia **18**, 217—296 (1948).

— Plant anatomy. New York 1953.

HEPTON, C. E. L., and R. D. PRESTON: Electron microscopic observations of the structure of sieve-connexions in the phloem of Angiosperms and Gymnosperms. J. exp. Bot. **11**, 381—393 (1960).

HILL, A. W.: The histology of the sieve tubes of *Pinus*. Ann. Botany **15**, 575—611 (1901).

HOHL, H.-R.: Über die submikroskopische Struktur normaler und hyperplastischer Gewebe von *Datura stramonium*. I. Teil: Normalgewebe. Ber. schweiz. bot. Ges. **70**, 395—439 (1960).

HUBER, B.: Das Siebröhrensystem unserer Bäume und seine jahreszeitlichen Veränderungen. Jb. wiss. Bot. **88**, 176—242 (1939).

KLIMA, J.: Das Bild des Endoplasmatischen Retikulums von *Planaria alpina* in Abhängigkeit vom p_H-Wert des Fixierungsmittels. (I.) Protoplasma **51**, 415—435 (1960).

KOLLMANN, R.: Untersuchungen über das Protoplasma der Siebröhren von *Passiflora coerulea*. I. Lichtoptische Untersuchungen. Planta (Berl.) **54**, 611—640 (1960a).

— Untersuchungen über das Protoplasma der Siebröhren von *Passiflora coerulea*. II. Elektronenoptische Untersuchungen. Planta (Berl.) **55**, 67—107 (1960b).

— Zur Feinstruktur des Phloems. Vortr. Dtsch. Botaniker-Tagg in Halle a. d. Saale 1961. Ber. dtsch. bot. Ges. **74** (54)—(55) (1961a).

— Studies on the fine-structure of the phloem. Vortr. British Biophys. Soc. Nottingham-Meeting July 26th—28th. 1961b im Druck.

MALAMED, S., and R. O. RECKNAGEL: Comparison of opacimetric and hematocrit methods in measurements of mitochondrial swelling. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **98**, 139—142 (1958).

MENKE, W.: Einige Beobachtungen zur Entwicklungsgeschichte der Plastiden von *Elodea canadensis*. Z. Naturforsch. **15**b, 800—804 (1960).

MÜHLETHALER, K.: Submikroskopische Morphologie. In E. BÜNNING u. E. GÄUMANN, Fortschr. Bot. **21**, 46—58 (1959).

PALADE, G. E.: Studies on the endoplasmic reticulum. II. Simple dispositions in cells in situ. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 567—582 (1955).

— The endoplasmic reticulum. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 85—98 (1956).

—, and K. R. PORTER: Studies on the endoplasmic reticulum. I. Its identification in cells in situ. J. exp. Med. **100**, 641—656 (1954).

PALAY, S. L., and G. E. PALADE: The fine structure of neurons. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 69—88 (1955).

PORTER, K. R., and C. BRUNI: Fine structural changes in rat liver cells associated with glycogenesis and glycogenolysis. Anat. Rec. **136**, 260—261 (1960a).

— — An electron microscopic study of the early effects of 3'-Me-DAB on rat liver cells. Cancer. Res **19**, 997—1009 (1960b).

—, and G. E. PALADE: Studies on the endoplasmic reticulum. III. Its form and distribution in striated muscle cells. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 269—299 (1957).

—, and E. YAMADA: Studies on the endoplasmic reticulum. V. Its form and differentiation in pigment epithel cells of the frog retina. J. biophys. biochem. Cytol. 8, 181—205 (1960).

Russow, E.: Über den Bau und die Entwicklung der Siebröhren. S.-B. Dorp. naturforsch. Ges. **6**, 257 (1882). Zit. nach Strasburger 1891.

Schnepf, E.: Zur Feinstruktur der Drüsen von *Drosophyllum lusitanicum*. Planta (Berl.) **54**, 641—674 (1960).

Schumacher, W., u. R. Kollmann: Zur Anatomie des Siebröhrenplasmas bei *Passiflora coerulea*. Ber. dtsch. bot. Ges. **72**, 176—179 (1959).

Sitte, P.: Die submikroskopische Organisation der Pflanzenzelle. (Erweiterte Fassung des Vortrages auf der Botaniker-Tagg in Halle a. d. Saale 1961.) Ber. dtsch. bot. Ges. **74**, 177—206 (1961).

Strasburger, E.: Über den Bau und die Verrichtungen des Leitungsbahnen in den Pflanzen. Histologische Beiträge, Bd. 3. Jena 1891.

Watson, M. L.: The nuclear envelope, its structure and relation to cytoplasmic membranes. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 257—270 (1955).

Whaley, W. G., H. H. Mollenhauer and J. E. Kephart: The endoplasmic reticulum and the golgi-structures in maize root cells. J. biophys. biochem. Cytol. **5**, 501—506 (1959).

— — and J. H. Leech: The ultrastructure of the meristematic cell. Amer. J. Bot. **47**, 401—449 (1960a).

— — — Some observations on the nuclear envelope. J. biophys. biochem. Cytol. **8**, 233—245 (1960b).

Wohlfarth-Bottermann, K. E.: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Amoebe *Hyalodiscus simplex n. sp.* Protoplasma **52**, 58—107 (1960).

Ziegler, H.: Untersuchungen über die Feinstruktur des Phloems. I. Die Siebplatten bei *Heracleum Mantegazzianum*. Planta (Berl.) **55**, 1—12 (1960).

Prof. Dr. W. Schumacher, Dr. R. Kollmann, Bonn,
Botanisches Institut der Universität, Meckenheimer Allee 170

Planta 57, 608—612 (1961)

Kurze Mitteilung

Aus dem Institut für Pflanzenernährung der Justus Liebig-Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. H. Linser)

MIKRONÄHRSTOFFGEHALTE VON BLÜTEN- UND SAMENTEILEN EINIGER GRAMINEEN

Von
W. Höfner, E. Schaumlöffel und L. Völker

(Eingegangen am 5. Oktober 1961)

Die quantitative Bestimmung der im plfanzlichen Organismus vorkommenden Mineralstoffe hat sich seit den ersten Aschegehaltsbestimmungen zu einem unentbehrlichen Hilfsmittel der Pflanzenphysiologie entwickelt. Dabei interessiert neben den Gesamtnährstoffgehalten der Pflanze besonders die Verteilung der einzelnen Elemente auf die verschiedenen Organe, da man aus der Art dieser Verteilung Rückschlüsse auf die physiologische Bedeutung der Elemente ziehen kann.

Bei höheren Pflanzen sind derartige Untersuchungen schon seit langem in großer Zahl besonders hinsichtlich der Makroelemente durchgeführt worden (Striegel, Mach u. Herrmann, Güttler, Bertrand), aber auch der Gehalt an Mikronährstoffen war Gegenstand zahlreicher Arbeiten [Güttler, Erkama, Schwaibold u. Nagel, Bertrand, Javillier, Robinson (Baumeister)]. Verhältnismäßig spärlich erscheint demgegenüber die Literatur über entsprechende Untersuchungen an Organteilen (Bertrand), was z. T. wohl in der Schwierigkeit der chemischen Analyse begründet liegt, da hierzu trotz der hohen Empfindlichkeit photometrischer Methoden immer noch ein Substanzbedarf von 0,5—1,0 g erforderlich ist.

Mit der weiteren Verbesserung der mikrochemischen Analysenmethoden eröffnen sich hier der Forschung neue Möglichkeiten. Die Aktivierungsanalyse, in deren Verlauf die zu analysierende Substanz im Reaktor bestrahlt und die dabei „radioaktiv" werdenden Elemente mittels der von ihnen emittierten Strahlen quantitativ erfaßt werden, besitzt für zahlreiche Elemente eine so große Empfindlichkeit, daß vielfach schon 10 mg Substanz zur Durchführung einer Analyse genügen. Im folgenden soll über die Ergebnisse einiger Untersuchungen berichtet werden, die sich mit den Gehalten an Cu, Zn, Mn und teilweise auch K in präparierten Organteilen einiger Gramineen befassen.

Methodik

Die unter dem Binokular präparierten Organteile wurden in Quarzröhrchen 8 Std lang in einem thermischen Neutronenfluß von 3×10^{11} n/cm²/sec bestrahlt und anschließend einer Kombination von chemischen Trennungsgängen unterworfen, wodurch die Elemente Cu, Zn und Mn voneinander getrennt und quantitativ bestimmt werden konnten (HÖFNER, SCHAUMLÖFFEL). Die Einwaagen lagen zwischen 4 und 30 mg lufttrockener Substanz. Die früher verwendete Methode (HÖFNER) wurde insofern erweitert, als die nach Abtrennung der Schwermetalle zurückbleibende Restlösung mit ihrem bei Pflanzensubstanz hohen Gehalt an Kalium zur Bestimmung dieses Kaliums an einer Ionenaustauschersäule aufgearbeitet wird. Ein aliquoter Teil, meist 50 von insgesamt 100 ml Restlösung, wird zuerst zur Vertreibung des Ammoniums auf etwa 20 ml eingeengt, dann auf eine 60 cm lange Austauschersäule (Ø 1,5 cm, Kunstharz: Dowex 50×8, 80—120 mesh) aufgebracht und mit 0,25 n-HCl bis zu einer Effluatmenge von 500 ml eluiert; Tropfgeschwindigkeit 1,0 ml/min. Damit sind sämtliche Anionen und das eventuell vorhandene, störende Na^{24} entfernt. Anschließend erhält man durch Eluieren mit 5 n-HCl in einem Volumen von 250 ml sämtliches K^{42}, das nach Einengen oder bei hohen Aktivitäten direkt durch Messung aliquoter Mengen bestimmt werden kann.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der Bestimmungen sind in den nachstehenden Tabellen zusammengefaßt, deren Zahlen jeweils den Mittelwert von drei Analysen darstellen. Zur Untersuchung der Bestandteile von Karyopsen mußten je Analyse etwa 10—15 Körner präpariert werden, da das Gewicht von 15 lufttrockenen Roggenembryonen nur 9—10 mg beträgt. Die Abweichungen der Einzelanalysen untereinander liegen bei freipräparierten Teilen von Körnern zwischen 5 und 10%, im Falle der Analyse von Pollen unter 5%.

Aus den Angaben der Tabelle 1 und 2 wird deutlich, welche unterschiedlichen Nährstoffkonzentrationen innerhalb einzelner Pflanzenorgane auftreten können. Von den Mikroelementen Cu, Zn und Mn besitzen bei allen untersuchten Früchten die Embryonen die höchsten Mengen, mit Ausnahme der Gerste, bei der ein höherer Cu-Gehalt in der äußeren Fruchthaut auftritt. Als äußere Fruchthaut wird der aus Cuticula, Epidermis und Längszellenschicht bestehende äußere Teil des Perikarps bezeichnet, der sich vom angefeuchteten Korn leicht mit der Pinzette ablösen läßt. Die Gerste bildet auch hinsichtlich der Kaliumverteilung eine Ausnahme, da bei ihr die äußere Fruchthaut den höchsten K-Gehalt aufweist. Alle anderen Körner besitzen im Embryo die höchsten, im Endosperm die niedrigsten und in der äußeren Fruchthaut mittlere K-Mengen, die mit Ausnahme von Mais etwa 25% niedriger als im Embryo sind. Entgegen Literaturberichten (BERGNER) übersteigt beim Hafer der K-Gehalt der Deck- und Vorspelzen wesentlich den des Endosperms und erreicht fast den der Fruchthaut. Möglicherweise liegt der Unterschied darin begründet, daß in der erwähnten

Tabelle 1. *Cu-, Zn-, Mn- und K-Gehalte freipräparierter Teile der Körner einiger Getreidearten*

Pflanzenart	Teil der Karyopse	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)	K (ppm)
Secale cereale . .	Embryo	11,8	216	122	12158
	äußere Fruchthaut	9,5	67,4	50,3	10267
	Endosperm	2,0	14,1	1,8	1619
Triticum sativum	Embryo	10,6	232	216	14173
	äußere Fruchthaut	7,8	75,0	63,6	11120
	Endosperm	1,2	9,9	2,1	1110
Avena sativa . .	Embryo	9,3	191	199	10836
	äußere Fruchthaut	7,7	133	73,4	7884
	Endosperm	1,9	37,7	11,1	1685
	Vorspelze	2,2	46,3	4,4	5076
	Deckspelze	5,0	74,3	15,7	8175
Hordeum sativum	Embryo	9,6	92,4	59,4	9625
	äußere Fruchthaut	13,8	73,3	24,2	17364
	Endosperm	2,9	6,9	6,1	2563
Zea mays . . .	Embryo	6,9	160	24,4	11129
	äußere Fruchthaut	4,6	37,1	14,6	2348
	verhärtete, gelbe Endospermschicht	0,72	7,3	0,7	348
	Endosperm	2,7	3,3	1,3	521

Tabelle 2. *Cu-, Zn- und Mn-Gehalte von Blütenteilen verschiedener Gramineen*

Gramineen-Art	Herkunft	Gewebe	Cu (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)
Secale cereale	Feldbestand	Staubbeutel mit Pollen	17,9	108	408
Triticum sativum . . .	Gefäßversuch Quarzsand NPK-Volldüngung + Cu	Staubbeutel mit Pollen	24,8	155	39,7
	Gefäßversuch Cu-Mangelboden NPK-Volldüngung	Staubbeutel mit Pollen	7,3	280	46,1
	Feldbestand	Staubbeutel mit Pollen	14,9	85,2	34,5
Avena sativa	Feldbestand	Staubbeutel mit Pollen	35,6	140	100
	Feldbestand	Fruchtknoten	16,2	112	61,6
Alopecurus pratensis . .	Feldbestand	Staubbeutel mit Pollen	21,9	80,6	170
Dactylis glomerata . . .	Feldbestand	Staubbeutel mit Pollen	15,3	235	144
Poa pratensis	Feldbestand	Staubbeutel mit Pollen	12,5	96,9	122
Lolium perenne	Feldbestand	Staubbeutel mit Pollen	16,8	217	53,3
Brachypodium silvaticum	Feldbestand	Staubbeutel mit Pollen	22,1	219	38,7

Arbeit zwischen Spelzen und Kern und nicht wie hier zwischen Spelzen und Endosperm unterschieden wurde.

Im allgemeinen decken sich unsere Ergebnisse mit denen zahlreicher anderer Untersuchungen, wonach das Endosperm besonders arm, der Embryo dagegen sehr reich an Mineralstoffen ist (PELSHENKE). Der hohe Mineralstoffgehalt der bei der Karyopse der Gramineen miteinander verwachsenen Frucht- und Samenschale wurde in ernährungsphysiologischen Arbeiten wiederholt festgestellt, besonders im Rahmen von Untersuchungen, in denen man den Ausmahlungsgrad des Mehles in Beziehung zu seinem Mineralstoff- und Spurenelementgehalt gesetzt hat (KOLLATH). Daß aber auch die äußere Fruchthaut bereits einen sehr hohen Gehalt an Mikronährstoffen und an K besitzt, geht aus den Ergebnissen unserer Analysen hervor. Die Bedeutung der Untersuchungen freipräparierter Fruchtteile wird besonders im Falle des Zinks deutlich, das nach den Angaben der Literatur (SCHARRER) seinen geringsten Gehalt innerhalb der Pflanze in den Samen und Früchten besitzen soll. Unsere Ergebnisse zeigen jedoch, daß in den Embryonen sowohl der Gehalt an Zn, wie auch der an Cu und Mn 4—5mal höher als in den vegetativen Teilen der entsprechenden Arten liegt. Das trifft ebenfalls für die pollenhaltigen Staubbeutel zu, bei denen der Cu-Gehalt gegenüber dem der Embryonen allgemein noch wesentlich erhöht ist. Die Gehalte liegen besonders hoch bei Hafer, was vielleicht einen Hinweis auf die Bedeutung des Cu für die generative Entwicklung dieser Getreideart gibt. Wie stark eine Cu-Düngung sich im Cu-Gehalt des Pollens auswirkt, zeigt die Untersuchung bei Weizen, wo die entsprechenden Werte auf Quarzsand gewachsener Pflanzen um mehr als das Dreifache über denen der Pflanzen des Cu-Mangelbodens liegen.

Bei all diesen Untersuchungen muß man sich darüber klar sein, daß die absoluten Mineralstoffgehalte der Organteile infolge des Einflusses zahlreicher äußerer Faktoren während der Wachstumszeit mehr oder weniger großen Schwankungen unterliegen können. Die Relation zwischen den Gehalten der einzelnen Organteile bleibt jedoch weitgehend konstant, was im Rahmen dieser Arbeit bestätigt werden konnte.

Zusammenfassung

1. Durch Anwendung einer verbesserten Form der Aktivierungsanalyse gelingt es, selbst in Proben von 10 mg noch Mikronährstoffbestimmungen durchzuführen, wodurch der Analyse von pflanzlichen Organteilen neue Möglichkeiten geboten werden.

2. In freipräparierten Teilen der Karyopsen von Roggen, Weizen, Hafer, Gerste und Mais wurden mittels dieser Methode die Mikronährstoffe Cu, Zn, Mn und von den Makronährstoffen K bestimmt.

3. Von den untersuchten Teilen der Körner weisen allgemein die Embryonen den höchsten, das Endosperm den niedrigsten und die

äußere Fruchthaut einen mittleren Gehalt sowohl an den drei Mikronährstoffen Cu, Zn, Mn wie auch an Kalium auf. Die Mikronährstoffgehalte liegen in den Körnern 4—5fach höher als in vegetativen Pflanzenteilen.

4. Sehr hohe Mikronährstoffmengen wurden auch bei pollenhaltigen Staubbeuteln gefunden, wobei besonders der hohe Cu-Gehalt des Haferpollens auffällt.

Literatur

Baumeister, W.: Die Aschenstoffe. In W. Ruhlands Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. IV, S. 5—36. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958.

Bergner, K. G., u. K. Wagner: Mineralstoffe im Haferkorn und ihre Verteilung bei der Haferflockenherstellung. Getreide u. Mehl **10**, 81 (1960); **11**, 11, **13**, 61 (1961).

Höfner, W.: Neue Möglichkeiten der Mikroelementbestimmung durch Aktivierungsanalyse. Landwirtsch. Forsch. **13**, 287—293 (1960).

Kollath, W.: Die Ordnung unserer Nahrung. Stuttgart: Hippokrates-Verlag 1955.

Pelshenke, P. F.: Neuere Ergebnisse und Erfahrung über den Aufbau und die Zusammensetzung des Getreidekorns. Getreide u. Mehl Heft 6 (1951).

Scharrer, K.: Biochemie der Spurenelemente. Hamburg u. Berlin: Parey-Verlag 1955.

Schaumlöffel, E.: Über die colorimetrische Bestimmung der Mikronährstoffe Kupfer, Zink, Kobalt, Mangan, Eisen und Molybdän aus einer Aschenlösung durch fraktionierte Extraktion. Landwirtsch. Forsch. **13**, 278—286 (1960).

Dr. W. Höfner,
Institut für Pflanzenernährung der Universität, Gießen, Braugasse 7

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigung bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Vorläufige Mitteilungen werden nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellungen der Tatbestände ist zulässig.

II. Formelle Anforderungen

Originalarbeiten sollen nicht umfangreicher als zwei Druckbogen (à 16 Druckseiten) sein; Kurze Mitteilungen dürfen den Umfang von vier Druckseiten nicht überschreiten.

Das Manuskript muß leicht leserlich und einseitig geschrieben sein. Die Abbildungs-Vorlagen sind auf besonderen Blättern einzureichen, ebenso die Legenden. Die Arbeiten müssen knapp und sprachlich klar geschrieben sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. *Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen* (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) *herzustellen.*

Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

Für die Rechtschreibung ist die „wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt.

Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenfassung der wesentlichen Ergebnisse anzufügen. Eine Übersetzung dieser Zusammenfassung in eine andere der Kongreß-Sprachen kann in Petit-Druck hinzugefügt werden, sofern beide Zusammenfassungen nicht mehr als insgesamt $1^1/_2$ Druckseiten beanspruchen.

Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text, oder wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen und angefordert werden kann.

Die Abbildungen sind auf das unbedingt notwendige zu beschränken. Knappe Abbildungsunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Unzulässig ist die doppelte Darstellung in Tabelle *und* Kurve. Für Halbtonbilder (Photos, Mikrophotos, Halbtonzeichnungen) sind reproduktionsfähige, d.h. scharfe, gut durchgezeichnete und tonwertreiche Vorlagen (Hochglanzabzüge) einzureichen. Die Beschriftung der Abbildungen mit Buchstaben und/oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise sind auf einem über die Vorlage geklebten Deckblatt einzureichen. Für schematische Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzungen reproduziert werden sollen, sind saubere, klare Skizzen abzuliefern, die vom Verlag umgezeichnet werden.

Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen (jeweils mit Anfangsbuchstaben des Vornamens) *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und weniger wichtigen Teilen ist für Kleindruck vorzumerken. Autorennamen sollen (für KAPITÄLCHEN-Druck) doppelt, lateinische Namen der Objekte (für *Kursiv*-Druck) geschlängelt unterstrichen werden. In Kursiv-Druck können auch andere Worte des Textes gesetzt werden, die der Autor besonders hervorzuheben wünscht.

Das Zerlegen der Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel nicht die gleichen sind.

Danksagungen können in Form von Fußnoten zum Beitragstitel oder als kurzer Petitabschnitt am Schluß der Arbeit gebracht werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

In der Korrektur sollen nur Druckfehler verbessert, jedoch keine inhaltlichen oder stilistischen Änderungen vorgenommen werden. 10% der Satzkosten übersteigende Korrekturkosten müssen den Autoren in Rechnung gestellt werden.

Ergebnisse der Biologie

Herausgegeben von H. Autrum · E. Bünning · K. v. Frisch · E. Hadorn
A. Kühn · E. Mayr · A. Pirson · J. Straub · H. Stubbe · W. Weidel
Redigiert von Hansjochem Autrum

Zuletzt erschien:

Vierundzwanzigster Band

Mit 62 Abbildungen. IV, 335 Seiten (7 Beiträge in deutscher und 1 Beitrag in englischer Sprache) Gr.-8°. 1961. Steif geheftet DM 68,—

INHALTSVERZEICHNIS

Verwandtschaftsbeziehungen und Phylogenie der Turbellarien. Von P. Ax, Göttingen · Die künstliche Selektion nach quantitativen Merkmalen. Von H. L. Le Roy, Zürich · Ergebnisse der Elektronenmikroskopie am zentralen, peripheren und vegetativen Nervensystem. Von H. Hager, München · Mitteldarmdrüsen und Insektenfettkörper als Zentralorgane des Stoffwechsels. Von K. Urich, Berlin · Das caudale neurosekretorische System bei Fischen. Von Y. Sano, Kyoto (Japan) · Grundprinzipien der akustischen und taktilen Informationsverarbeitung. Von W. D. Keidel, Erlangen · Vergleichende Physiologie des Energiestoffwechsels von Muskeln. Von E. Zebe, Heidelberg · Nervous Activities of the Heart in Crustacea. By S. Hagiwara, Los Angeles (USA) · Namen- und Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany